

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *Phyllanthus niruri* L PADA
SEL MONONUKLEAR TERHADAP VIABILITAS SEL
ADENOKARSINOMA MAMMA MENCIT C3H
PENELITIAN INVITRO**

TESIS

**Diajukan kepada Pengelola Program Magister Ilmu Biomedik
Universitas Diponegoro untuk memenuhi syarat guna memperoleh
Derajat Sarjana S2 Magister**



**Diajukan Oleh :
CHODIDJAH
NIM: G4A000003**

**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS DIPONEGORO
2003**

UPT-PUSTAK-UNDIP

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *Phyllanthus niruri* L PADA SEL MONONUKLEAR TERHADAP VIABILITAS SEL ADENOKARSINOMA MAMMA PENELITIAN INVITRO

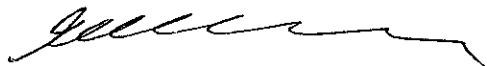
disusun oleh :

**CHODIDJAH
G4A000003**

telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 23 April 2003
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

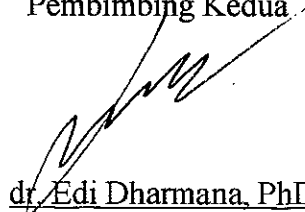
Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama



Prof. Dr.dr. H. Tjahjono, Sp.PA (K), FIAC
NIP.130368076

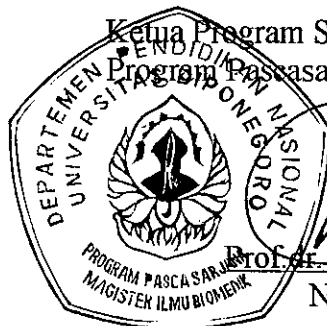
Pembimbing Kedua




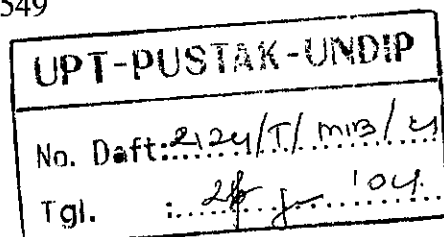
dr. Edi Dharmana, PhD
NIP. 130529451

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Program Pascasarjana Universitas Diponegoro




Prof. dr. H. Soebowo, Sp.PA
NIP.130352549



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, April 2003

Penulis

UCAPAN TERIMAKASIH

Alhamdulillahirobbil Alamin, penulis panjatkan kehadiran Allah S W T, yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis yang berjudul “Pengaruh Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* pada sel mononuklear terhadap viabilitas sel adenokarsinoma mamma mencit C3H” telah dapat penulis selesaikan .

Tesis ini kami susun dalam rangka melengkapi persyaratan untuk memperoleh derajat sarjana S2 Magister. Penulis bersyukur masih diberi kesempatan oleh Allah S W T untuk dapat mengembangkan ilmu pengetahuan yang dapat berguna untuk nusa dan bangsa.

Banyak pihak yang telah membantu dalam penulisan ini. Untuk ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar – besarnya atas segala bantuannya, terutama kepada:

1. Dr. dr. H. M. Rofiq Anwar, Sp PA selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung yang telah memberikan kesempatan kepada tenaga pengajar Unissula untuk melanjutkan studi.
2. Dr. H. Muktasim Billah, SpS selaku Dekan F. K. Unissula juga telah memberikan kesempatan kepada tenaga pengajar F. K. Unissula untuk melanjutkan studi.

3. Direktur Program Pascasarjana Universitas Diponegoro yang membuka peluang kepada siapa saja yang memenuhi persyaratan untuk meningkatkan ilmu pengetahuan
4. Prof.dr. H. Soebowo, Sp.PA selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, yang telah memberikan dorongan dan motivasi untuk dapat menyelesaikan studi.
5. Prof.Dr.dr. H. Tjahjono, Sp.PA (K), FIAC, selaku pembimbing I yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya untuk membimbing dan memberi pengarahan dalam menyusun tesis ini.
6. dr. Edi Dharmana, MSc, PhD, selaku pembimbing II yang senantiasa memberikan pengarahan dan juga memberikan referensi serta dorongan moril agar dapat menyelesaikan tesis ini.
7. Tauhid Nur Azhar, S Ked, M.Kes, yang telah meluangkan banyak waktu dan pikiran, serta memberikan pengarahan maupun referensi – referensi dalam menyelesaikan tesis ini.
8. dr. Parno Widjojo, Sp.FK selaku tim penguji proposal yang telah memberikan petunjuk dan pengarahan lebih lanjut untuk pelaksanaan tesis ini.
9. dr. Andrew Johan, M.Si selaku tim penguji proposal yang telah memberikan petunjuk dan pengarahan serta memberikan referensi tentang prosedur laboratorium untuk pelaksanaan tesis ini.
10. dr. Indra Wijaya, Sp.PA selaku narasumber yang telah memberikan petunjuk dan pengarahan lebih lanjut untuk pelaksanaan tesis ini.

11. dr. M. Masjhoer, MS, Sp.FK selaku narasumber yang telah memberikan petunjuk serta pengarahan untuk penyelesaian tesis ini.
12. Drs. Gunardi, Apt selaku staf bagian Farmasi FK Undip yang telah meluangkan waktu membimbing, memberikan petunjuk dan praktikum cara pembuatan ekstrak tumbuhan obat tradisional.
13. dr. Mpu Kanoko S, PhD, Sp.PA selaku Ketua Bagian Patologi Anatomi FK UI Jakarta yang telah memberikan ijin untuk menggunakan fasilitas laboratorium di bagian PA FK UI dalam rangka penelitian ini.
14. Dra. Puspita Eka Wuyung, MS selaku Kepala Laboratorium Eksperimental bagian Patologi Anatomi FK UI Jakarta yang telah meluangkan banyak waktu, tenaga dan pikirannya dalam membimbing pelaksanaan penelitian di laboratorium sampai selesainya penelitian ini.
15. Drs. Kusmardi, MS selaku staf laboratorium eksperimental PA FK UI Jakarta yang telah memberikan petunjuk untuk pelaksanaan penelitian ini.
16. Suami dan anak – anak tercinta yang dengan penuh pengertian serta memberikan banyak kesempatan untuk penyelesaian tesis ini.
17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu

Penulis berharap semoga Allah SWT melimpahkan berkat dan rahmat Nya kepada semua pihak yang telah banyak membantu dalam penyelesaian tesis ini. Semoga tesis ini dapat bermanfaat dan dapat menambah pengetahuan.

Semarang, 23 April 2003

Penulis

DAFTAR ISI

	Hal
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR DAN GRAFIK	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1. Latar Belakang	1
I.2. Perumusan Masalah	4
I.3. Tujuan Penelitian	4
I.3.1 Tujuan Umum	4
I.3.2 Tujuan Khusus	4
I.4. Manfaat Penelitian	5
BAB II STUDI PUSTAKA	6
II.1 Sel Tumor	6
II.2 Respon Imun Tubuh Terhadap Tumor	12
II.3 <i>Phyllanthus niruri</i> Linn (Meniran)	18

II. 4	Landasan Teori	22
Bab III	Kerangka Teori, Kerangka Konsep dan Hipotesis	26
III.1	Kerangka Teori	26
III.2	Kerangka Konsep	27
III.3	Hipotesis	28
III.4	Alasan memilih kerangka konsep	28
BAB IV	METODE PENELITIAN	29
IV.1	Jenis Penelitian	29
IV.2	Bahan Penelitian	29
IV.3	Alat Penelitian	30
IV.4	Cara Penelitian	31
IV.5	Populasi dan Sampel	31
IV.6	Waktu dan Tempat Penelitian	33
IV.7	Variabel Penelitian	33
IV.8	Analisa Data	33
IV.9	Alur Kerja	35
BAB V	HASIL PENELITIAN	38
BAB VI	PEMBAHASAN	50
BAB VII	KESIMPULAN DAN SARAN	55
BAB VIII	RINGKASAN	56
DAFTAR	PUSTAKA	61
LAMPIRAN		66

DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 1. Viabilitas sel tumor yang diberi ekstrak air <i>Phyllanthus niruri</i> L dosis 100 mg/ml	38
Tabel 2. Hasil penghitungan nilai P dari uji –t viabilitas sel tumor yang diberi ekstrak air <i>Phyllanthus niruri</i> L dosis 100 mg/ml pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam	39
Tabel 3. Viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak air <i>Phyllanthus niruri</i> L dosis 1, 2, 3, dan 4 pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam	40
Tabel 4. Viabilitas sel mononuklear menurut uji <i>Tukey HSD</i>	42
Tabel 5. Hasil penghitungan nilai P viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak <i>Phyllanthus niruri</i> L dosis 1, 2, 3 dan 4 dibandingkan dengan kelompok kontrol menurut uji <i>Dunnett</i>	43
Tabel 6. Hasil penghitungan viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak <i>Phyllanthus niruri</i> L berdasarkan waktu menurut uji <i>Tukey HSD</i>	44
Tabel 7. Viabilitas sel tumor yang diberi sel mononuklear teraktivasi oleh <i>Phyllanthus niruri</i> L dosis 1, 2, 3, dan 4 pada waktu 24jam, 48 jam dan 72 jam.	46

Tabel 8.	Hasil penghitungan perbedaan dosis <i>Phyllanthus niruri</i> L yang diberikan ke sel mononuklear terhadap viabilitas sel tumor menurut uji <i>Tukey HSD</i>	46
Tabel 9.	Hasil penghitungan signifikasi viabilitas sel tumor dibandingkan dengan kelompok kontrol menurut uji <i>Dunnett</i>	49
Tabel 10.	Viabilitas sel tumor dilihat dari waktu sel mononuklear teraktivasi oleh ekstrak air <i>Phyllanthus niruri</i> menurut uji <i>Tukey HSD</i>	49

DAFTAR GAMBAR DAN GRAFIK

	Hal
Grafik 1. Viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak Pn dosis 1,2,3,4 pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam	41
Grafik 2. Viabilitas sel tumor yang diberi sel mononuklear Teraktivasi oleh Pn dosis 1,2,3,4 pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam	46
Gambar 1. <i>Phyllanthus Species</i>	76
Gambar 2. Serbuk ekstrak air Meniran (<i>Phyllanthus niruri L</i>)	77
Gambar 3. Koloni sel tumor adenokarsinoma mamma yang menempel didasar flask (tanpa pengecatan)	78

DAFTAR LAMPIRAN

	Hal
1. Prosedur pemeriksaan pemberian ekstrak <i>Phyllanthus niruri</i> L ke sel mononuklear	66
2. Prosedur pemeriksaan pemberian ekstrak <i>Phyllanthus niruri</i> L dosis 100 mg/ml ke sel tumor	67
3. Prosedur pemeriksaan sel mononuklear yang diberi ekstrak <i>Phyllanthus niruri</i> L ditemukan dengan sel tumor	68
4. Prosedur tripsinasi sel tumor yang akan ditemukan dengan sel mononuklear dan untuk hitung viabilitas sel tumor	71
5. Prosedur kultur sel tumor	72
6. Prosedur panen sel tumor	74
7. Prosedur kultur sel mononuklear dari limpa	74
8. Cara menghitung viabilitas sel tumor	76
9. Prosedur preparasi larutan ekstrak	77
10. Output SPSS	81
11. Ijin Fasilitas Laboratorium	94
12. Keterangan Hasil Ekstraksi	95
13. Riwayat Hidup	96

ABSTRAK

Angka kejadian kanker mamma di Indonesia menduduki tempat kedua setelah kanker leher rahim. *Phyllanthus niruri* Linn merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang bersifat imunostimulan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Phyllanthus niruri* L dapat meningkatkan proliferasi limfosit, sitotoksitas sel NK, serta fagositosis makrofag. Penelitian ini mengkaji pengaruh pemberian berbagai dosis ekstrak air *Phyllanthus niruri* Linn pada sel mononuklear terhadap viabilitas sel tumor dalam berbagai lama pemberian.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium (*invitro*) dengan desain *post test randomized control group*. Kultur sel tumor mamma (jenis adenokarsinoma) mencit C3H dipertemukan dengan kultur sel mononuklear mencit C3H sehat dengan perbandingan antara sel tumor dengan sel mononuklear 1: 50. Kultur sel mononuklear sebelumnya telah diaktivasi oleh ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn dalam berbagai dosis (0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml, dan 100 mg/ml). Lama aktivasi 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Delapan belas jam setelah sel mononuklear dipertemukan dengan sel tumor, viabilitas sel tumor pada tiap kelompok waktu dievaluasi dengan cara menghitung jumlah sel tumor yang masih hidup dan yang mati.

Data dianalisis dengan *analysis of variance* multifaktor dan dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* dan uji *Dunnett*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* Linn ke sel mononuklear dapat menurunkan viabilitas sel tumor. Viabilitas sel tumor paling efektif dicapai pada dosis 100 mg/ml dalam waktu aktivasi sel mononuklear 72jam (viabilitas sel tumor 32,1 %)

Kesimpulan: Ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn yang diberikan ke sel mononuklear, dapat menurunkan viabilitas sel tumor.

Kata kunci: *Phyllanthus niruri* L, viabilitas sel tumor, adenokarsinoma mamma, mencit C3H.

ABSTRACT

Breast cancer is the second rank on the incidence of cancer in Indonesia, whereas, *cervical cancer* is the first. *Phyllanthus niruri* Linn is one of traditional herbs which have immunostimulant effect. Some studies showed that *Phyllanthus niruri* Linn has potential benefits to increase the lymphocyte-cell proliferation, NK cell cytotoxic activity and macrophage phagocytosis.

This aim of this research is to evaluate the influence of the added of different doses aqueous extract of *Phyllanthus niruri* Linn into mononuclear cells to the viability of cancer cells.

The design of this experimental laboratory research (invitro study) is *post test randomized control groups design*. Cancer cells culture (adenocarcinoma mammae) of C3H mice, were compared to mononuclear cells culture of healthy C3H mice, in a comparative range of 1: 50 of cancer cells and mononuclear cells. The mononuclear cells had been activated by employing the different doses aqueous extract of *Phyllanthus niruri* Linn (0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml, and 100 mg/ml) for 24 hours, 48 hours and 72 hours. After that, the mononuclear cells in each groups of time were mixed with cancer cells for 18 hours. We compared the death and the living cancer cells to evaluate the viability of cancer cells.

Analysis of Variance of Multifactor, *Tukey HSD test* and *Dunnnett test* were applied to analyse the data. The result suggest that the added of aqueous extract of *Phyllanthus niruri* Linn into mononuclear cells decreased the viability of cancer cells. The result also showed that the viability of cancer cells is effectively decreased by employing the dose of 100 mg/ml *Phyllanthus niruri* Linn, in an activated time of mononuclear cells for 72 hours. In this group the viability of cancer cells was 32,1 %.

Conclusion: *Phyllanthus niruri* Linn extract that added into mononuclear cells decrease the viability of cancer cells.

Key word : *Phyllanthus niruri* L, cancer cells viability, adenocarcinoma mamma, C3H mice.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Kanker merupakan suatu penyakit dimana sel tumbuh secara berlebihan, tidak terkendali dan tidak terkoordinasi. Penyebab kanker adalah kelainan gen akibat radiasi, karsinogen kimia dan virus. Lebih dari 20% kematian di Amerika Serikat setiap tahun disebabkan oleh kanker, yaitu kanker paru, kolon dan kanker mamma.¹

Kanker mamma merupakan penyebab kematian akibat penyakit kanker urutan kedua setelah kanker paru pada wanita. Menurut *World Health Organisation (WHO)* pada tahun 2001 terdapat lebih dari 1.200.000 wanita terdiagnosis kanker mamma di seluruh dunia. Pada tahun 2000 di Asia terdapat 348.388 kasus baru dan 134.458 diantaranya diperkirakan meninggal dunia.²

Di Indonesia, kanker mamma menduduki tempat kedua setelah kanker leher rahim.³ Dengan sangat sedikitnya data tentang epidemiologi kanker di Indonesia, pada tahun 2000 Yayasan Kanker Indonesia sedang melakukan penelitian tentang pola penyebaran kanker, perilaku dan faktor resiko kanker di Indonesia meliputi 10 jenis kanker yang di prioritaskan yaitu kanker leher rahim, mamma, hati, paru, kulit, nasofaring, limfoma maligna, leukemia, dan trofoblas ganas.⁴ Penelitian dilakukan dengan melibatkan semua potensi yang

ada di Indonesia melalui kerjasama institusional, baik langsung maupun melalui Yayasan Kanker Indonesia wilayah.⁴

Menurut *National Cancer Institute of Canada* tahun 1997, *insiden rate* kanker mamma setiap tahun meningkat 1,5 % sejak tahun 1981. Pada tahun 1997 di Canada terdapat 18.400 kasus baru dengan angka kematian 5100 kasus.⁵

Berbagai terapi kanker telah di upayakan baik dengan pengobatan modern maupun pengobatan alternatif. Pengobatan modern kanker dilakukan dengan sitostatika, radioterapi dan terapi pembedahan. Sampai saat ini terapi tersebut tidak selalu memberikan hasil yang menggembirakan, terutama untuk tumor-tumor stadium lanjut. Berbagai penelitian mulai dilakukan terhadap pengobatan biologik. Salah satu terapi biologik yang telah dipakai oleh masyarakat adalah ramuan tumbuhan obat tradisional. Tanaman obat tradisional yang digunakan masyarakat antara lain daun ciplukan, daun dewa, daun sambung nyawa dan meniran (*Phyllanthus niruri* L).

Phyllanthus niruri Linn/L (meniran/memeniran) banyak tumbuh di seluruh Indonesia sebagai tanaman liar. Tanaman ini telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Ekstrak tumbuhan *Phyllanthus* yang diberikan secara invitro pada kultur sel kanker laring (*cell line HeP2*) dan pada kultur sel mononuklear, ekstrak *Phyllanthus* ini menunjukkan efek antiproliferasi pada kultur sel kanker laring dan meningkatkan proliferasi limfosit.⁶

Belum adanya ketentuan baku mengenai dosis tanaman obat untuk pemakaian imunomodulator, penelitian yang dilakukan oleh Suprpto Maat,

memakai dosis 0,2 ml dari dekokta serbuk tanaman *Phyllanthus niruri* 10 % diberikan peroral pada mencit BALB/c selama satu minggu, dapat memberikan stimulasi respon imun yang maksimal.⁷ Pada penelitian ini dilakukan dengan pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri* L dosis 0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml dan 100 mg/ml pada sel mononuklear.

Pemberian peroral genus *Phyllanthus* (*Phyllanthus emblica*) pada mencit galur BALB/c dapat meningkatkan sitotoksisitas sel *Natural Killer* (NK). Pemberian peroral ekstrak *Phyllanthus niruri* L dapat meningkatkan sitotoksisitas sel NK mencit terhadap sel target *cell line SV 49* (limfosarcoma mencit). Walaupun mekanisme bagaimana sel NK mengenali sel target secara langsung masih belum jelas.⁷

Penelitian pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L secara invivo telah dilakukan untuk meneliti berbagai komponen sistem imun. Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L pada mencit dapat meningkatkan aktifitas fagositosis dan tidak mempengaruhi aktifitas fungsi sel-sel monosit dalam mensekresi *Tumor Necrosis Factor α* .⁷ Pemberian peroral ekstrak *Phyllanthus niruri* L pada mencit BALB/c dapat meningkatkan proliferasi limfosit, tetapi tidak mempengaruhi aktifitas sitotoksisitas limfosit T sitotoksik CD 8⁺. Pemberian per oral *Phyllanthus niruri* L dapat meningkatkan proliferasi limfosit T secara invitro pada 72 jam setelah memperoleh rangsangan dari mitogen *Concavalin A* (Con-A) dan *Phytohemagglutinin* (PHA).⁷ Pemberian per oral ekstrak *Phyllanthus niruri* L ini juga dapat merangsang subset limfosit T helper yaitu

limfosit Th1 dan limfosit Th2.⁷ Penelitian ini memakai waktu untuk aktivasi sel mononuklear 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

Akar dari *Phyllanthus acuminatus* diketahui dapat menekan pertumbuhan *Lymphocytic Leukemia cell line* (Murinep 388).⁸

Melihat angka kematian pada kanker mamma yang tinggi dan belum adanya penelitian tentang pengaruh *Phyllanthus niruri L* sebagai imunostimulan dalam fungsinya sebagai pembunuh sel adenokarsinoma mamma merupakan dasar dilakukannya penelitian ini yaitu pengaruh pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* berbagai dosis dan waktu pada sel mononuklear, terhadap viabilitas sel adenokarsinoma mamma.

1.2. RUMUSAN MASALAH

Apakah pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* pada sel mononuklear, menurunkan viabilitas sel adenokarsinoma mamma yang dipengaruhi oleh dosis dan waktu

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. TUJUAN UMUM

Membuktikan terjadinya efek *Phyllanthus niruri L* sebagai imunostimulan dalam membunuh sel adenokarsinoma.

1.3.2. TUJUAN KHUSUS

1. Membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* ke sel adenokarsinoma mamma tidak berpengaruh terhadap viabilitas sel adenokarsinoma mamma.

2. Membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1mg/ml, 1mg/ml, 10 mg/ml dan 100 mg/ml pada sel mononuklear dengan waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam dan ditambahkan pada sel adenokarsinoma mamma akan menurunkan viabilitas sel adenokarsinoma mamma.

1.4. MANFAAT PENELITIAN

Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya dalam pengembangan pemakaian obat tradisional untuk menurunkan viabilitas sel tumor.

BAB 2

STUDI PUSTAKA

2.1 SEL TUMOR

Neoplasia terbagi menjadi dua kelompok yaitu neoplasia jinak dan neoplasia ganas. Neoplasia jinak tidak invasif, tumbuh lambat, berbatas tegas (berkapsul), aktivitas mitosisnya rendah. Sedangkan neoplasia ganas dapat menginvasi jaringan disekitarnya serta menyebar ke bagian lain tubuh dan sel tersebut membentuk daerah pertumbuhan sekunder (metastasis), tumbuh cepat, batas tidak tegas dan aktifitas mitosisnya tinggi.⁹

Kanker berasal dari satu sel yang mengalami mutasi. Beberapa kanker diberi nama sesuai dengan daerah tubuh dimana kanker itu dimulai, misal kanker payudara, kanker prostat, kanker paru-paru, kanker hati, dan lain-lain, namun tidak ada perbedaan pada sistem imun tubuh untuk melawan sel kanker yang berasal dari daerah tubuh yang berbeda.²⁴ Pada manusia, penyebab kanker adalah radiasi, karsinogen kimia, dan virus. Sel kanker dapat beranak sebar (metastasis) melalui darah dan limfe ke organ yang tidak terkait, membentuk pertumbuhan sel kanker yang baru.¹⁰

DNA merupakan sasaran utama didalam sel bagi karsinogen kimia dan radiasi. Karsinogen kimia dan radiasi dapat menimbulkan kerusakan DNA dan merubah struktur basa atau menyebabkan putusnya untai DNA. Walaupun mekanisme perbaikan DNA dapat memperbaiki bagian-bagian DNA yang rusak, namun apabila kerusakan tidak diperbaiki dengan benar atau apabila

tidak diperbaiki sebelum terjadi replikasi, dapat timbul mutasi.¹⁰ Apabila mutasi terjadi pada gen yang mengontrol pertumbuhan dan perkembangan, sel dapat mulai berkembang dan tumbuh secara abnormal dan menjadi kanker.^{10,15} Gen *retinoblastoma* dan gen *P53* pada manusia dapat diidentifikasi pada sel-sel kanker mamma.^{10,40} Fungsi normal dari produk protein dari gen-gen itu mengontrol proliferasi sel. Demikian juga *tumor suppressor gen* berfungsi menghambat proliferasi sel. Kehilangan dari fungsi supresor gen ini akan terjadi proliferasi sel berlebihan yang menyebabkan kanker.¹⁰ Protein Bcl 2 akan menghambat apoptosis pada sel kanker mamma secara invitro.¹¹ Ekspresi dari Bcl 2 merupakan salah satu indikator prognosis dari kanker mamma.¹² Ekspresi berlebihan dari famili Bcl 2 ini menandakan kemoresistensi dari kanker mamma terhadap berbagai terapi antikanker.¹³ Gen BRCA1 dan BRCA2 terdapat pada kanker mamma. Gen BRCA1 selain didapatkan pada kanker mamma, juga didapatkan pada kanker ovarium.¹⁰

Proto onkogen mengontrol pertumbuhan dan pembelahan sel normal. Gen ini mengkode faktor pertumbuhan, reseptor faktor pertumbuhan, faktor transkripsi, atau protein lain yang terlibat dalam mempromosikan pertumbuhan sel.^{14,15} Onkogen yang disisipkan kedalam sel normal oleh virus atau terbentuk akibat efek mutagenik kimia atau radiasi pada proto onkogen, menyebabkan sel tumbuh secara abnormal apabila onkogen tersebut diekspresikan.¹⁴ Beberapa onkogen dan protein produknya yaitu onkogen *sis*, disekresi dari sel dan fungsinya berkaitan dengan faktor pertumbuhan. Onkogen *erb*, *fms*, lokasinya pada membran sel, serta fungsinya berkaitan

dengan reseptor pada membran sel. Onkogen *jun* dan *fos*, lokasinya pada inti sel dan fungsinya berkaitan dengan faktor transkripsi. Onkogen *myc* juga terdapat pada inti sel, serta fungsinya berkaitan dengan protein pengikat DNA.¹⁵

Sel tumor memproduksi protein-protein abnormal, protein yang menyebabkan proliferasi sel terus menerus, serta protein yang menghambat proses diferensiasi secara normal.⁹ Sel tumor untuk kelangsungan hidupnya memerlukan air, nutrient dan oksigen dan juga menginduksi terbentuknya pembuluh darah baru untuk mensuplai kehidupan sel.⁹ Perbedaan antara sel normal dan sel tumor yaitu, sel tumor tidak tergantung pada faktor pertumbuhan seperti pada sel normal, sel ini mensekresi faktor pertumbuhan sendiri (autokrin) untuk menstimulasi proses proliferasi.^{9,17,40} Pada pertumbuhan sel normal, ada kontak inhibisi sedangkan sel tumor akan tumbuh terus.^{17,26} Sel tumor akan kehilangan fungsi adesif dibanding dengan sel normal. Proliferasi sel normal akan terkendali sedangkan sel tumor proliferasinya tidak terkendali.¹⁶ Sel tumor dapat menginvasi dan merusak jaringan serta organ didekatnya.^{15,17,40}

Beberapa faktor yang terlibat pada proses metastase adalah *proteinase*, molekul adesi (*E-Cadherin*) dan famili *integrin*.^{16,17,40} Beberapa produk tumor adalah substansi yang sesuai dengan produk sel asal (misal keratin dari karsinoma sel skuamosa, hormon steroid dari adenoma adrenokortikal), substansi yang tidak diharapkan (tidak sesuai dengan produk sel normal),

substansi fetalis (*carsinoembrionik antigen*) serta substansi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan invasi.¹⁸

Sel tumor memproduksi prostaglandin melalui jalur *Cyclooxygenase* / COX. COX-1 didapatkan pada berbagai jaringan, sedangkan COX-2 adalah enzim yang didapatkan pada peradangan dan enzim ini terutama didapatkan pada sel kanker. COX-2 diekspresikan berlebihan pada jaringan neoplastik.¹⁹ COX-2 yang terutama didapatkan pada sel tumor, memberikan efek proneoplastiknya yaitu terhadap *Transforming Growth Factor - β* , COX ini mengaktifasi TGF- β dari fungsi anti proliferasi menjadi proproliferasi. Efek COX- 2 juga mengurangi perlekatan matrik ekstra sel dan pembentukan pembuluh darah pada tumor (angiogenesis) dan juga bertanggung jawab pada metastase sel tumor.²⁰ TGF- β dan prostaglandin merupakan imunosupresor. TGF- β akan menghambat aktifitas limfosit dan makrofag, juga akan mengurangi ekspresi molekul – molekul MHC I (*Major Histocompatibility Complex*) pada sel tumor.²¹

Makro molekul yang terdapat pada permukaan sel ganas disebut sebagai antigen tumor (tumor marker). Beberapa penanda tumor yang berguna dalam klinik yaitu *Carcino Embryonic Antigen (CEA)* terdapat pada kanker kolon, paru, mamma dan pankreas, *Alfa Feto Protein (AFP)* terdapat pada kanker hati, *Human Chorionic Gonadotropin (HCG)* terdapat pada kanker trofoblast.^{22,23} *Prostat Specific Antigen (PSA)* terdapat pada kanker prostat, *Calcitonin (CT)* terdapat pada kanker tiroid. *Antigen Ca19-9* terdapat pada kanker pankreas, kanker lambung serta kanker kolorektal. *Antigen Ca 125*

terdapat pada cairan kista ovarium. *Mucin Like Carcinoma Associated Antigen* (MCA) terdapat pada kanker payudara. *Cyfra 21.1* (sitokeratin) terdapat pada kanker paru.²²

Radikal bebas berperan juga sebagai penyebab kanker, dan antioksidan akan membantu menekan pertumbuhan kanker.²⁴ Sel-sel tumor dapat memproduksi radikal bebas secara berlebihan. Sebagai molekul pengembara, radikal bebas ini akan mengirimkan signal melalui jalur protein yang bertanggung jawab untuk pertumbuhan sel yang tak terkendali. Penelitian pada *National Institute of Health* diketahui bahwa antioksidan dapat menekan proses ini.²⁴

Transformasi sel normal ke dalam fenotip ganas merupakan permulaan progresi dari tumor.⁹ Tanda-tanda fenotip yang terlihat dalam transformasi adalah, perubahan sifat pertumbuhan, perubahan morfologi, perubahan karyotip, perubahan antigen serta penyimpangan metabolik.⁹

Pada sel normal yang tumbuh pada perbenihan yang mengandung serum akan terus membelah sampai terbentuk satu lapisan yang melebar, pada saat replikasi selanjutnya berhenti oleh karena hambatan kontak.^{9,17} Pada sel-sel yang mengalami transformasi tidak dipengaruhi oleh hambatan kontak dan tumbuh pada perbenihan, akan membentuk banyak lapisan dan massa yang tidak teratur.^{9,40} Sel-sel yang mengalami transformasi ini tidak mengalami diferensiasi terminal (kegagalan maturasi). Kemampuan hidup dan kemampuan replikasinya lebih lama, sel ini bersifat imortal yaitu dapat dilakukan subkultur berulang-ulang sampai tak terhingga. Pada sel normal

yang mampu bertahan dalam subkultur hanya mengalami beberapa kali pembelahan sebelum sel mati. Perubahan morfologi dari sel yang mengalami transformasi akan memiliki bentuk yang bervariasi.⁹

Perubahan karyotip telah ditemukan dalam banyak sel yang mengalami transformasi dan sel kanker. Ada dugaan kuat bahwa perubahan gen terjadi pada semua keadaan tersebut. Sel normal pada manusia mengandung 46 kromosom. Peralihan jumlah kromosom atau struktur kromosom, didapati pada sebagian besar tumor. Berbagai perubahan pada kromosom meliputi seluruh kromosom, sebagian kromosom dan translokasi kromosom. Kehilangan dari unsur kromosom dapat menimbulkan kehilangan fungsi dari *tumor suppressor gen*. Demikian juga perbanyakan dari regio kromosom dapat juga menimbulkan ekspresi berlebihan dari onkogen.⁹

Pada perubahan antigen belum ada bukti pasti bahwa kanker manusia memiliki antigen spesifik tumor yang unik. Pada hewan percobaan antigen tumor pada umumnya ditentukan oleh kemampuan hewan melawan tumor yang ditanamkan, setelah sebelumnya dikenai oleh tumor hidup atau mati. Adanya penyimpangan metabolik, enzim pada sel tumor mirip dengan sel normal asalnya. Makin anaplastik dan tidak berdiferensiasi sel tumor makin besar penyimpangannya dari sistem enzim sel normal.⁹

2.2 RESPON IMUN TUBUH TERHADAP TUMOR

Tubuh secara normal akan mengadakan reaksi apabila terpapar oleh substansi asing atau antigen. Reaksi tubuh ini dikenal sebagai respon imun. Respon imun humoral muncul bila reaksinya diperantarai oleh antibodi yang dihasilkan oleh sel B setelah mengalami sensitasi oleh antigen. Sedangkan respon imun seluler yaitu melalui aktivitas sel T.^{25,26}

Imunitas tubuh dibedakan atas 2 jenis yaitu imunitas alami / tidak spesifik dan imunitas adaptif yang bersifat spesifik. Yang termasuk imunitas alami adalah pertahanan fisik / mekanik yaitu kulit, selaput lendir, silia, batuk, bersin, pertahanan yang larut adalah asam lambung, lisosim, laktoferin, komplemen, interferon, CRP (*C Reactive Protein*), pertahanan seluler, fagosit mononuklear (monosit dan makrofag), polimorfonuklear (neutrofil dan eosinofil), sel-NK (*Natural Killer*), sel mediator (Basofil, Mastosit, Trombosit). Yang termasuk imunitas spesifik yaitu sel-B dan sel-T (sel T helper / Th, sel T supresor / Ts, sel sitotoksik / Tc).^{25,27}

Ada tiga tahap pembentukan imunitas tubuh yaitu tahap pengenalan (*recognition*), tahap aktivasi, dan tahap pelaksanaan efektor. Pada tahap pengenalan (*recognition*), limfosit-B dapat mengenali antigen tanpa bantuan sel lain, akan tetapi limfosit-T akan mengenali antigen apabila disajikan oleh sel penyaji antigen yaitu antara lain makrofag, sel dendritik (pada jaringan limfoid), sel limfosit-B, sel langerhans di kulit. Sel-T akan mengenali antigen pada protein MHC (*Major Histocompatibility Complex*) yang ada pada permukaan sel penyaji.^{26,27}

Terdapat dua macam MHC yaitu MHC I akan diekspresikan oleh seluruh sel-sel tubuh dan digunakan untuk menyajikan substansi-substansi ke sel-T CD8+ (bersifat sitotoksik). MHC II hanya di ekspresikan oleh makrofag dan beberapa tipe sel lain dan mempresentasikan antigen kepada sel-T CD4+ yang berfungsi sebagai sel-T helper. Sel-T CD4+ ini mempunyai reseptor permukaan (TCR) yaitu CD3.^{21,26}

Makrofag akan memasukkan protein asing ekstra sel dengan cara endositosis protein tersebut ke endosom dan terjadi proses proteolitik protein asing tersebut sehingga terbentuk fragmen-fragmen peptida asing.²⁷ Ikatan fragmen peptida asing dengan MHC II akan di ekspresikan ke permukaan sel sebagai kompleks peptida asing-molekul MHC II. Komplek peptida asing – MHC II inilah yang akan dikenali oleh sel-T CD4+. Sel-T akan mengenali kompleks tersebut apabila peptidanya asing dan MHC nya milik sendiri.²⁷ Pada tahap aktivasi, setelah pengenalan dengan antigen, terjadi respon biologi sel-T yaitu sel-T dapat mengeluarkan sitokin dan dapat menghancurkan sel target terhadap antigen yang dituju.²⁷ Sel-T juga akan berproliferasi melalui *Autocrin Growth Pathway* yaitu sel-T mengeluarkan sitokin peningkat pertumbuhan. Faktor pertumbuhan autokrin (juga berfungsi sebagai parakrin) antara lain adalah IL-2 (*Interleukin -2*) dan IL-4 (*Interleukin -4*).^{21,27}

Tahap pelaksanaan efektor yaitu sitokin yang dihasilkan oleh sel-T dan sel non limfoid dapat merupakan mediator pada imunitas alami dan imunitas spesifik. Sel-T CD4+ yang telah teraktivasi akan berdiferensiasi tergantung stimulan terutama adalah sitokin yang dihasilkan pada saat pengenalan

antigen. Sitokin terpenting yang dihasilkan oleh sel Th-1 pada fase efektor adalah IFN- γ (*Interferon- γ*), TNF- β (*Tumor Necrosis Factor - β*), IL-2 (*Interleukin -2*).^{21,27}

Sistem imun tidak spesifik, dapat langsung menghancurkan sel tumor tanpa sensitisasi sebelumnya. Efektor sistem imun tersebut adalah sel-Tc (*Tcitotoxic*), fagosit mono nuklear, polimorf, sel-NK (*Natural Killer*). Aktivasi sel-T melibatkan sel-Th (*Thelper*), Ts (*Tsupresor*) dan Tc. Sel-Th penting pada pengerahan dan aktivasi makrofag dan sel -NK.²⁵

Imunitas alami terhadap tumor diperankan oleh makrofag yang diaktifkan, dan sel-NK. Efeknya dapat sitolitik atau sitostatik. Imunitas jenis ini tidak memerlukan antibodi dan spesifitas antigen. Sel-sel tersebut menyerang semua jenis sel tumor.^{21,27}

Mekanisme kekebalan untuk membunuh sel-sel tumor melibatkan aktifitas sel-sel limfosit.²⁵ Sel-sel limfosit dapat menginfiltrasi lokasi tumor. Mekanisme humoral dapat menghancurkan sel tumor secara invitro yaitu lisis oleh antibodi dan komplemen, opsonisasi melalui antibodi dan komplemen, hilangnya adesi-adesi oleh antibodi, sedangkan mekanisme seluler adalah destruksi oleh sel-Tc, ADCC (*Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity*), destruksi oleh makrofag yang diaktifasi dan destruksi oleh sel-NK (*Natural Killer*). *Interferon (IFN)* dan *Tumor Necrosis Factor (TNF)* merupakan limfokin yang dapat membunuh sel tumor.^{21,25,27}

Sel-Th1 dapat mengenali Tumor Spesifik Antigen (TSA) pada kumpulan molekul-molekul MHC II pada permukaan dari *Antigen Presenting*

Cell khusus. Aktivasi dari Th1 akan memproduksi sitokin-sitokin seperti IFN- γ , TNF- β dan IL-2 dan menstimulasi sel-T CD8+ pada kumpulan tumor spesifik antigen yang dipresentasikan oleh MHC I.^{19,25,38} Sel-T sitotoksik, melalui TCR (reseptor permukaan) akan mengenal antigen yang dipresentasikan bersama dengan MHC kelas I pada sel-sel target yang mengakibatkan terjadinya sitotoksik langsung terhadap sel target tersebut.²⁷ IFN- γ yang dihasilkan oleh sel-Th1 akan mengaktifkan makrofag dan sel-NK, sehingga kemampuan makrofag untuk memfagositosis sel tumor akan bertambah, dan setelah terjadi kontak antara reseptor sel-NK dengan sel target, sel-NK yang akan menghasilkan perforin^{21,28} Perforin ini mempunyai kemampuan untuk melubangi membran sel tumor, dan selanjutnya sel-NK akan melepas NKCF (*Natural Killer Cytotoxic Factor*) yang akan ditelan oleh sel tumor melalui reseptor NKCF yang akan berakibat lisisnya sel tumor.²¹ IL-2 yang dihasilkan oleh sel-Th1 akan mempengaruhi sel-B untuk meningkatkan opsonisasi.²¹

Sitokin-sitokin yang disekresi oleh sel kanker meliputi TGF- β (*Transforming Growth factor- β*) IL-10 dan VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*). Sekresi dari TGF- β terdapat pada beberapa tipe kanker, misalnya *glioma maligna*, kanker mamma, kanker prostat dan leukemia. TGF- β merupakan sitokin yang bersifat immunosupresif yang poten dari beberapa sitokin tersebut diatas.¹⁹ Proliferasi dari sel-sel-T, sel-sel-B, sel-NK, monosit dan makrofag akan menghambat TGF- β . TGF- β berefek pada limfosit-T sitotoksik yang penting untuk imunitas antitumor karena efek sitotoksiknya.

TGF- β menurunkan regulasi berbagai proses yang diperlukan oleh aktifitas sel-T sitotoksik. Ini bekerja dengan menggeser keseimbangan Th1 – Th2 kearah Th2 yaitu penghambatan sitokin Th1 meliputi IL-12, penurunan regulasi reseptor-reseptor IL-2 pada sel-sel-T, penghambatan *Antigen Presenting Cell* pada MHC II dan penurunan regulasi adhesi. TGF- β juga mengurangi ekspresi molekul-molekul MHC I. Pengurangan dari molekul-molekul MHC I akan menimbulkan penghambatan aktifitas sitolitik CD8+. IL-10 akan menurunkan fungsi dari makrofag.²¹

Sel-NK terdapat 10% sampai 15 % dari *PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cells)* normal pada manusia. Sel-NK merupakan sel efektor dari respon imun alami dan respon imun spesifik.²⁹ Sel-NK dapat teraktivasi melalui pengenalan secara langsung dengan sel tumor. Mekanisme sel-NK dalam membunuh sel tumor seperti juga mekanisme sel limfosit-T sitotoksik dalam membunuh sel tumor, tetapi sel-NK ini tidak mengekspresikan reseptor-reseptor antigen yang terdapat pada sel-T. Sel-NK ini dapat melisis sel yang terinfeksi oleh virus dan juga *cell line* tumor secara invitro.^{21,27} Pada berbagai tumor yang memiliki ekspresi MHC sedikit, maka tidak akan dikenali oleh sel-T sitotoksik sehingga sel tumor ini akan luput dari sistem perondaan sel-T. Namun sel-NK dapat mengikat antibodi yang melapisi sel target dan dapat terjadi efek sitotoksitas sel-NK terhadap sel target tersebut. Peristiwa ini disebut ADCC (*Antibody Dependent Cell mediated Cytotoxicity*).^{25,27} Oleh karena sel-NK mempunyai reseptor Fc untuk molekul-molekul imunoglobulin G disebut CD16 (Fc γ RIII). Kapasitas

pembunuhan sel tumor dari sel-NK akan bertambah oleh sitokin-sitokin meliputi *interferon*, TNF (*Tumor Necrosis Factor*), IL-2 dan IL-12. Ini tergantung dari sitokin-sitokin yang diproduksi oleh sel -T atau makrofag.¹

IL-12 dapat mempengaruhi sel-NK dan sel-T untuk mensekresi IFN- γ . IL-12 akan mengaktifkan sel-NK untuk berfungsi sitolitik dan juga mengaktifasi sel-T CD8+. ²¹ IL-12 ini tidak bereaksi pada sel-sel istirahat, dan akan bereaksi pada sel-sel yang berdiferensiasi. ^{21,27}

Makrofag merupakan sistem imun non spesifik seluler. Gangguan pada makrofag untuk memproduksi IL-1, akan mengurangi respon imun terhadap tumor.²⁷ IL-1 merangsang sel-T untuk memproduksi limfokin.²⁷ Makrofag mempunyai antigen asing pada permukaannya dalam bentuk yang dapat dikenali oleh antigen spesifik limfosit-T. Fungsi dari makrofag sebagai APC (*Antigen Presenting Cell*). Makrofag memproduksi sitokin yang merangsang proliferasi dan diferensiasi sel-sel-T.^{17,19,27,39} Salah satu dari sitokin sitokin tersebut adalah IL-12, ini sangat penting untuk pertumbuhan sel-sel perantara kekebalan. Aktivasi makrofag terhadap tumor secara invitro dapat melisis sel-sel tumor dan tidak melisis sel-sel yang normal.²⁷ Mekanisme makrofag dalam menghancurkan sel tumor seperti juga mekanisme makrofag dalam menghancurkan organisme-organisme yang menimbulkan infeksi. Mekanismenya adalah dengan mengeluarkan enzim-enzim lisosom, metabolit-metabolit oksigen reaktif dan nitrit oksid (pada tikus). Aktivasi makrofag juga memproduksi sitokin TNF (*Tumor Necrosis Factor*), juga dapat membunuh sel tumor, tapi tidak membunuh sel-sel normal.²⁷ TNF dalam membunuh sel

tumor dengan efek toksik langsung dan efek tidak langsung pada vaskulatur tumor. Efek tidak langsung yaitu dengan cara menginduksi trombosis pada pembuluh darah tumor sehingga menjadi nekrosis sel tumor. Efek toxic langsung tergantung pada ikatan dari TNF ke reseptor - reseptor permukaan sel dengan afinitas yang tinggi pada sel-sel tumor. *Toxicity* ini dapat menghasilkan radikal bebas. Pada sel-sel yang normal, respon untuk TNF dengan mensintese *superoxid dismutase* merupakan suatu enzim yang bertanggung jawab untuk inaktivasi radikal bebas.²⁷

2.3 *Phyllanthus niruri* LINN / MENIRAN

Sinonim : *Phyllanthus pumilus*, *Phyllanthus kirganelia*, *Phyllanthus carolinensis*, *Phyllanthus asperculata*, *Phyllanthus lathyroides*, *Phyllanthus mycrophyllus*, *Phyllanthus urinary* *Phyllanthus amarus*, *Phyllanthus acutifolius*, *Phyllanthus nobilis*.^{30,31}

Nama umum: *Chanca Piedra*, *Quebra Piedra*, *Pitirishi*, *Stone Breaker*, *Memeniran*, *Meniran*, *Rami Buah*, *Tamalaka*, *Turi Hutan* dll.³¹ *Phyllanthus niruri* diklasifikasikan dalam:

Devisi	: <i>Spermatohyta</i>	: <i>Spermatophyta</i>
Anak devisi	: <i>Angiospermae</i>	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotylae</i>	: <i>Dicotylae</i>
Subklas	: <i>Monoclamidae</i>	: <i>Monoclamidae</i>
Bangsa	: <i>Euphorbiales</i>	: <i>Euphorbiales</i>
Suku/Familia	: <i>Euphorbiaceae</i>	: <i>Euphorbiaceae</i>
Marga/genus	: <i>Phyllanthus</i> Linn	: <i>Phyllanthus</i> Linn
Jenis/Species	: <i>Phyllanthus niruri</i> Linn	: <i>Phyllanthus niruri</i> Linn

Diskripsi:

Phyllanthus niruri L tumbuh tegak dengan tinggi 50 cm sampai 1 m.³⁰

Batang bulat, tidak berbulu, licin, hijau keunguan atau hijau pucat. Diameter batang + 3 mm dan sering sangat bercabang terpecar, cabang mempunyai daun tunggal yang berseling dan tumbuh mendatar dari cabang pokok. Daun majemuk berseling warna hijau, bulat telur, tepi rata, pangkal membulat, ujung tumpul atau runcing. Panjang daun 5 -10 mm, lebar 2,5 mm. Permukaan daun bagian bawah berbintik-bintik kelenjar. Bunga keluar dari ketiak daun. Tumbuhan ini berbau aromatik, rasanya pahit.⁷

Kandungan Kimia dari *Phyllanthus niruri* L³²:

- Lignan* : *phyllanthine, hypophyllantine, phylltetralin, lintetralin, niranthin, nirtetralin, nirurin, niruside, nirphyline.*
- Terpen* : *Cymene, limonene, lupeol, lupeol acetate.*
- Flavonoids* : *Quercetin, Quercitrin, Isoquercitrin, astragalin, rutine, physetinglucoside.*
- Lipids* : *ricinoleic acid, dotriancontanoic acid, linoleic acid, linolenic acid.*
- Benzenoids* : *Methlsalicylate.*
- Alkaloid* : *Norsecurinine, 4-metoxinorsecurinine, entnorsecurinina, nirurine.*
- Steroid* : *Beta sitosterol*
- Alcanes* : *Triacontanal, Triacontanol.*
- Lain-lain* : *vitamin C, tanin, saponin.*

Tumbuhan *Phyllanthus niruri* L ini terdapat pada daerah tropis yaitu di Indonesia, India, Philipina, Amerika, Australia, Argentina utara dll. *Phyllanthus niruri* L ini lebih dari 6500 jenis/spesies. Terdapat lebih dari 600 nama generik *Phyllanthus niruri* L ini.³⁰ Tumbuhan ini panjangnya + 50 cm, di Indonesia tumbuh sebagai tanaman liar di seluruh Indonesia, pada tanah yang gembur dan mengandung pasir, di ladang, di tepi sungai dan dipantai.

Tumbuhan ini belum dibudidayakan secara teratur. Pemakaian yang populer secara tradisional untuk batu ginjal, batu kandung kemih, penyakit hati.^{33,34} Di India dipakai untuk pengobatan disentri dan untuk mengurangi nyeri pada saluran pencernaan.^{32,35}

Pemberian peroral ekstrak *Phyllanthus niruri* L pada mencit BALB/c tidak mempengaruhi aktifitas fungsi sel-sel monosit dalam mensekresi TNF- α .⁷ Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L pada mencit dapat meningkatkan aktifitas fagositosis.^{7,36} Menurut Wagner(1991), sel fagosit yang berperan dalam pengujian semacam ini adalah 90% sel makrofag dalam hati (sel kupffer) dan 10 % sel makrofag dalam limpa.⁷

Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L pada mencit dapat meningkatkan proliferasi limfosit-T, tetapi tidak mempengaruhi aktifitas sitotoksisitas dari subpopulasi limfosit-T sitotoksik CD8+.⁷ Penelitian tentang pengaruh pemberian *Phyllanthus niruri* L pada sitotoksisitas limfosit-T sitotoksik CD8+ yaitu subpopulasi limfosit-T sitotoksik setelah diaktivasi dengan antigen, akan mampu melisiskan berbagai sel target. Dalam pengujian ini aktivasi sel-T sitotoksik dilakukan dengan penambahan mitogen

Phytohemagglutinin (PHA) dan sel-sel mononuklear yang berasal dari mencit galur lain diinaktifkan dengan penambahan *Mitomycin C*. Sel-sel mononuklear ini bertindak sebagai allo antigen, sehingga terjadi reaksi *Mixed Lymphosit Reaction* (MLR) dengan tujuan untuk memperoleh limfosit-T sitotoksik yang aktif. Sebagai sel target digunakan sel makrofag eksudat peritoneal yang diinduksi dengan penambahan *Thioglycollate* (*Thioglycollate-induced Peritoneal Exudate Cells*=TGPEC). Hasil yang didapat tidak ada perbedaan bermakna sitotoksitas limfosit-T sitotoksik yang berasal dari populasi mencit yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* (kelompok tes) dengan yang tidak diberi (kelompok kontrol), terhadap sel target TGPEC.⁷

Pemberian peroral ekstrak *Phyllanthus niruri L* dapat meningkatkan proliferasi limfosit-T secara invitro, setelah memperoleh rangsangan dari mitogen *concavalin A* dan PHA (*Phytohemagglutinin*).⁷ Pemberian peroral ekstrak *Phyllanthus niruri L* ini juga dapat merangsang subset limfosit-T helper yaitu limfosit-Th1 dan limfosit-Th2.⁷ Pengaruh pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* pada aktifitas limfosit-T helper dalam mensekresi limfokin, pengujian aktifitas limfosit-T helper dilakukan dengan cara merangsang sel-sel limfosit menggunakan *Concavalin A* dengan penambahan A P C (*Antigen Presenting Cell*) berupa suspensi sel mononuklear yang berasal dari mencit galur lain (*Quacker Bush*) dan diinaktivasi menggunakan *Mitomycin C*, limfokin yang disekresi oleh masing-masing subset Th1 dan Th2 diukur dengan metoda Elisa, dihasilkan penurunan aktifitas sekresi IL-2 oleh subset Th1.⁷ Juga pemberian peroral ekstrak *Phyllanthus niruri L* pada mencit

tidak mempengaruhi sekresi IFN- γ . Terhadap TNF- α , pemberian peroral ekstrak *Phyllanthus niruri L* ini akan meningkatkan sekresi TNF- α oleh subset Th1.⁷

Faktor yang memegang peranan penting terjadinya perubahan dari limfosit-T helper naïve menjadi subset Th1 dan Th2 adalah limfokin yang diproses lebih awal sebelum terjadinya diferensiasi. Jika IL-2 dan IFN- γ yang diproduksi lebih awal, maka subset Th1 akan berkembang dan akan menekan perkembangan subset Th2. Sebaliknya jika IL-4 yang diproduksi lebih awal, maka subset Th2 yang akan berkembang dan akan menyebabkan penekanan subset Th1. Diferensiasi limfosit-T helper diatur oleh jenis APC yang digunakan, jika menggunakan makrofag yang berarti merupakan sumber dari IL-12, maka yang berkembang adalah subset Th1, sebaliknya jika menggunakan sel-limfosit (limfosit-B) sebagai APC, maka yang berkembang adalah subset Th 2.³⁷

2.4 LANDASAN TEORI

Penyebab keganasan yang telah diketahui adalah radiasi, karsinogen kimia dan virus. DNA merupakan sasaran utama didalam sel bagi karsinogen kimia dan radiasi. Agen-agen ini menimbulkan kerusakan dan merubah struktur basa atau menyebabkan putusny untai DNA. Walaupun mekanisme perbaikan DNA dapat memperbaiki bagian-bagian DNA yang rusak, namun apabila kerusakan tidak diperbaiki dengan benar atau apabila tidak diperbaiki sebelum terjadi replikasi dapat timbul mutasi.¹ Apabila mutasi terjadi pada gen yang mengontrol pertumbuhan dan perkembangan sel, maka sel dapat mulai

berkembang secara abnormal. Gen supresor *retinoblastoma* dan *P53* merupakan gen untuk mengontrol proliferasi sel-sel.¹⁰ Protoonkogen mengontrol pertumbuhan dan pembelahan sel normal, gen ini mengkode faktor pertumbuhan, reseptor faktor pertumbuhan, faktor transkripsi dan proses lain yang terlibat dalam mempromosikan pertumbuhan sel. Onkogen yang disisipkan ke dalam sel normal oleh virus atau terbentuk akibat efek mutagenik kimia atau radiasi pada protoonkogen, menyebabkan sel tumbuh secara abnormal apabila onkogen tersebut diekspresikan. Pada penelitian-penelitian tanaman *Phyllanthus niruri* L (meniran) merupakan imunostimulan. Pada kultur sel mononuklear dari mencit C3H, yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri* L, limfosit akan teraktifasi sehingga memacu sel T untuk menghasilkan sel Th1 dan Th2. Sel-Th1 akan memproduksi IL-2, IFN- γ dan TNF- β . Sedangkan sel-Th 2 akan memproduksi IL-4, IL-5, IL-10. IL-4 berperan untuk aktivasi sel mast, aktivasi basofil, dan pada reaksi peradangan. IL-5 untuk aktivasi eosinofil dan IL-10 akan menghambat TNF- α , IL-1 dan IL-2 yang dihasilkan oleh makrofag. Pada kultur sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri* L sebagai imunostimulan, dan berperan terhadap sel tumor maka diharapkan dihasilkan limfokin kearah subset Th1. IFN- γ yang diproduksi oleh sel-Th 1 akan menghambat proliferasi sel-Th2 sehingga meningkatkan ekspresi sel Th-1. TNF- β yang dihasilkan oleh sel-Th1 akan menurun akibat pemberian *Phyllanthus niruri* L sehingga aktifitas limfosit akan bertambah. Demikian juga TGF- β yang dihasilkan oleh sel tumor juga akan menurun sehingga ekspresi dari MHC I akan meningkat dan dapat di

kenali oleh limfosit-T CD 8+, juga prostaglandin yang di hasilkan oleh sel tumor akan menurun sehingga aktivitas limfosit akan bertambah. IL-12 yang dihasilkan oleh makrofag akan mengaktifkan sel-NK dan sel-NK yang aktif ini sebagai *Limfosit Activating Killer* dan menghasilkan perforin.³⁷ Perforin ini akan membuat lubang-lubang pada membran sel tumor dan selanjutnya sel- NK akan melepas NKCF (*Natural Killer Cytotoxic Factor*) yang akan ditelan oleh sel tumor melalui reseptor NKCF dan berakibat lisisnya sel tumor. IFN- γ yang dihasilkan oleh sel-Th1 juga akan mengaktifkan makrofag sehingga kemampuan untuk memfagositosis sel tumor akan bertambah. Aktivitas makrofag Juga akan menghasilkan enzim lisosom, H₂O₂, prostaglandin, Nitrit Oksid (pada tikus), IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF- α . Pada permukaan membran makrofag terdapat MHC II dan MHC II ini akan berikatan dengan sel-T CD4+ sehingga aktivitas fagositosis makrofag akan bertambah.²⁷

IL-2 yang dihasilkan oleh sel-Th1 akan mempengaruhi sel-B untuk meningkatkan opsonisasi dan juga akan mengaktifkan sel-T sitotoksik CD 8+ dimana sel-T CD8+ akan berikatan dengan MHC I(*Major Histocompatibility Complex I*) pada permukaan sel tumor ini merupakan efek stimulasi dari *Phyllanthus niruri L* sehingga limfosit akan mudah mengenali antigen tumor. Juga ikatan sel-T CD8+ ini dengan sel tumor akan melisiskan sel tumor. Lisis sel tumor ini dapat melalui produksi perforin yang dihasilkan sel -T CD8+ atau secara apoptosis.²⁷ Dengan lisisnya sel tumor ini akibat pemberian

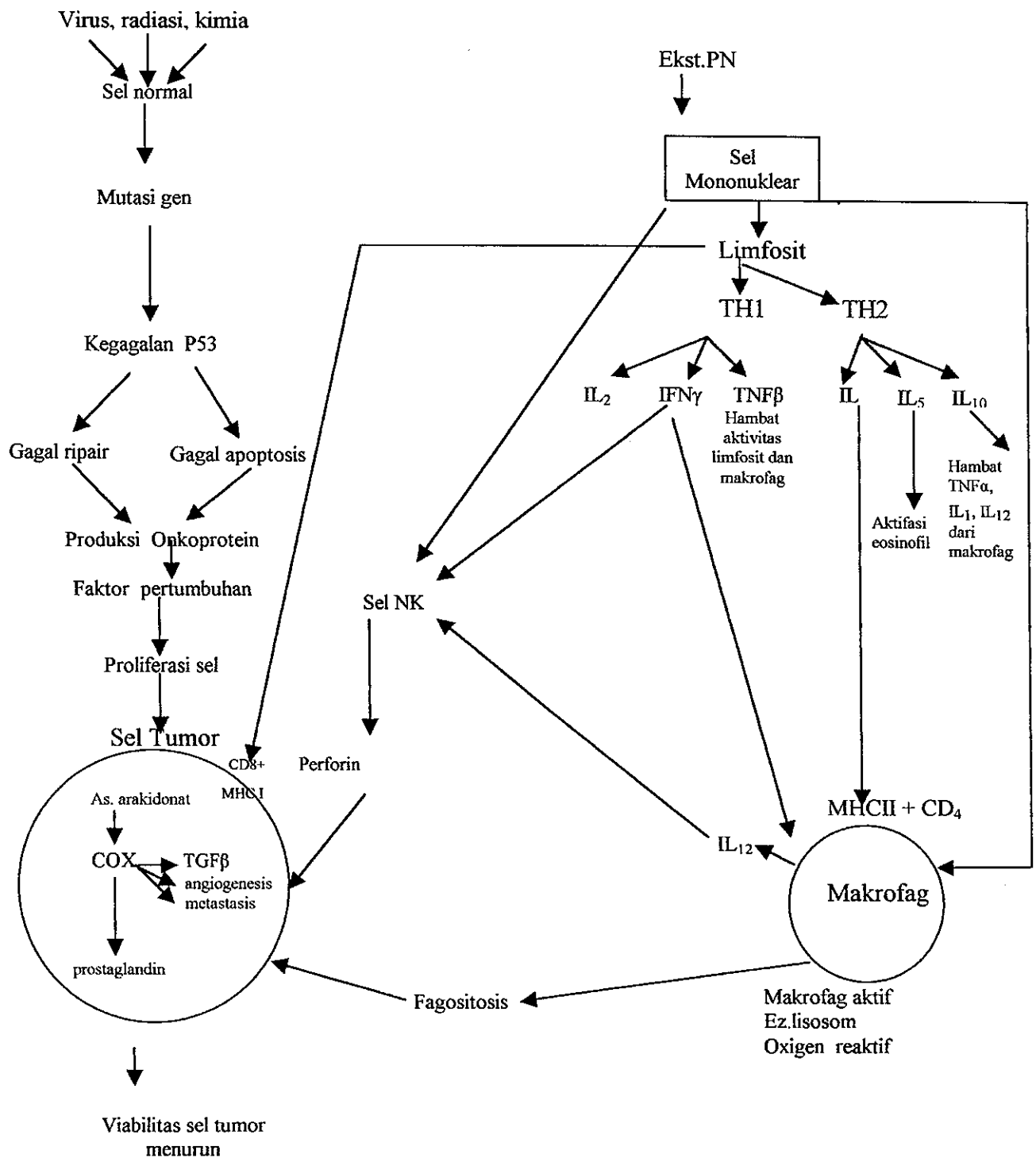
Phyllanthus niruri L sebagai imunostimulan, diharapkan terjadi penurunan viabilitas sel tumor.

UPT-POSTAK-INDIP

BAB 3

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1.KERANGKA TEORI



3.2 Kerangka Konsep.

Ekstrak *Phyllanthus niruri* L



Sel
Mononuklear



Sel tumor

Viabilitas sel tumor

3.3 HIPOTESIS

Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* pada sel mononuklear menurunkan viabilitas sel tumor dan dipengaruhi oleh dosis dan waktu.

3.4 ALASAN MEMILIH KERANGKA KONSEP

Belum adanya penelitian efek *Phyllanthus niruri L* sebagai imunostimulan dapat membunuh sel tumor. Disini ingin dilihat apakah sel mononuklear yang teraktivasi oleh *Phyllanthus niruri L* limfositnya dapat mengenali antigen tumor, makrofag menjadi aktif, sel NK aktif sehingga sel tumor banyak yang mati. Beberapa sitokin baik yang dihasilkan oleh makrofag maupun oleh sel-Th1 tidak di periksa. Aktivitas sel-NK juga tidak di periksa, disamping keterbatasan biaya telah ada penelitian terdahulu bahwa pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* pada mencit dapat meningkatkan sitotoksisitas sel-NK mencit terhadap sel target *cell line SV 49* (Limfosarkoma mencit).⁵

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 JENIS PENELITIAN

Eksperimental Laboratorium dengan *design* penelitian adalah *Post Test Randomized Control Group Design*.

4.2 BAHAN PENELITIAN:

1. Ekstrak air *Phyllanthus niruri L* dengan konsentrasi 0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml, 100 mg/ml yang didapat dari Laboratorium Farmasi ITB Bandung.
2. Kultur sel tumor dari mencit C3H bertumor jenis adenokarsinoma mamma. Usia mencit 8 minggu, didapat dari Laboratorium Patologi Anatomi UI Jakarta.
3. Kultur sel mononuklear dari limpa mencit C3H sehat. Usia mencit 8 minggu.
4. Bahan Kimia: Larutan RPMI 1640, Alkohol 70 %, *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10 %, *Phosphat Buffer Saline* (PBS), *Gentamycin*, *Tripsin* – EDTA 0,05 %, *Triphan Blue*.

4.3 ALAT PENELITIAN

- Sentrifus
- Incubator CO₂
- Laminar Air Flow
- Mikroskop
- Pipet
- Tabung reaksi
- Bilik hitung Improved Neubauer
- Kultur flask
- Mikrowel (sumuran) 24 dan 96
- Rak tabung reaksi
- Gunting
- Pinset
- Skalpel
- Petri
- Dekglas
- Pipet Eppendorf
- Nylon Wool

4.4 CARA PENELITIAN

4.4.1 Penelitian pendahuluan

- Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 100 mg/ml pada kultur sel tumor pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam.
- Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1 mg/ml, 1mg/ml, 10 mg/ml, 100 mg/ml pada kultur sel mononuklear pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

4.4.2 Penelitian yang dilakukan:

Kultur sel mononuklear yang telah teraktivasi oleh *Phyllanthus niruri L* selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam, ditemukan dengan kultur sel tumor, masing – masing ditunggu selama 18 jam kemudian dihitung viabilitas sel tumor.

4.5 POPULASI DAN SAMPEL:

4.5.1 POPULASI

Populasi adalah kultur sel tumor mencit C3H bertumor dan kultur sel mononuklear mencit C3H sehat.

4.5.2 SAMPEL

PENELITIAN PENDAHULUAN:

Sel tumor yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 100 mg/ml:

- 6 sumuran, tiap sumuran berisi:
- 100 ul sel tumor dg kepadatan $4,92 \times 10^5$ sel
- 200 ul ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 100 mg/ml

- Medium RPMI + FBS 10 % + *Gentamycin* 1 % +
- *Fungizon* 0,1% sampai volume tiap sumuran menjadi 2 cc

Sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1 mg/ml, 1mg/ml, 10 mg/ml dan 100 mg/ml

- 15 sumuran, terbagi menjadi 5 sumuran untuk pengamatan 24 jam, 5 sumuran untuk pengamatan 48 jam dan 5 sumuran untuk pengamatan 72 jam.

Dari masing – masing kelompok waktu tiap sumuran berisi :

- 60 ul suspensi sel mononuklear dengan kepadatan $5,2 \times 10^6$ sel
- 200 ul ekstrak *Phyllanthus niruri L* sesuai dosis
- Medium RPMI + FBS 10 % + *Gentamycin* 1 % + *Fungizon* 0,1 % sampai volume tiap sumuran menjadi 2 cc.

Sel mononuklear yang teraktivasi *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml, dan 100 mg/ml ditemukan dengan sel tumor

- 30 sumuran, 10 sumuran untuk pengamatan 24 jam, 10 sumuran untuk pengamatan 48 jam dan 10 sumuran untuk pengamatan 72 jam.
- Tiap sumuran berisi :
 - 100 ul sel tumor dengan kepadatan $0,1 \times 10^6$ sel.
 - 100 ul sel mononuklear yang telah teraktivasi *Phyllanthus niruri L* sesuai dosis dengan kepadatan 5×10^6 sel.

Dilakukan pengamatan duplo.

4.6 WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN:

Waktu Penelitian : September 2002 sampai dengan Maret 2003

Tempat Penelitian : Laboratorium Patologi Anatomi Universitas
Indonesia Jakarta

4.7 VARIABEL PENELITIAN

Variabel bebas :

- Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1ug/ml, 1ug/ml, 10ug/ml, 100ug/ml.
- Waktu pemberian : 24 jam, 48 jam, dan 72 jam.

Variabel tergantung:

- Viabilitas sel tumor yang dihitung dari perbandingan sel tumor yang hidup dan sel tumor yang mati
- Variabel Antara:
- Kultur sel mononuklear.

4.8 ANALISA DATA

Data yang didapat dianalisis dengan menggunakan program komputer *SPSS 10 for Windows*.^{42,43} Semua data di uji normalitasnya dengan tes *Kolmogorof –Smirnov*. Data penelitian pendahuluan sel tumor yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 100 mg/ml pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam, dianalisis dengan uji – t dan dilanjutkan dengan uji *Benferoni*.⁴⁴

Data penelitian pendahuluan sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml dan 100 mg/ml pada

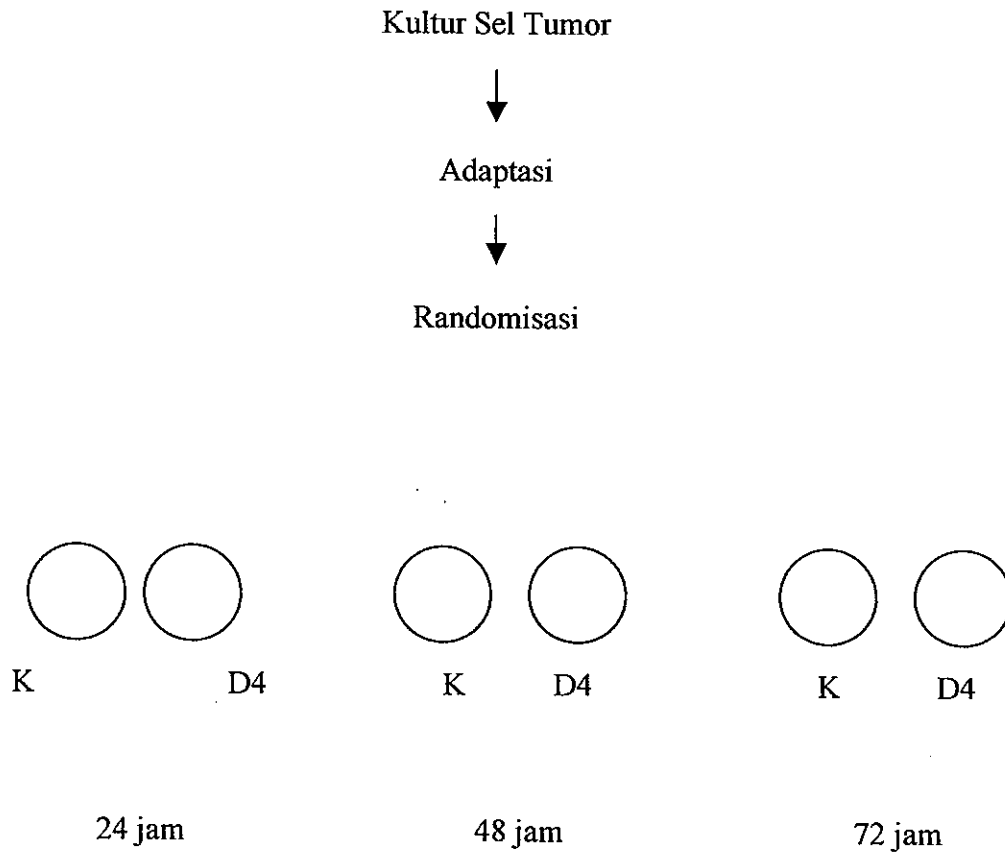
waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam dianalisis dengan *Analysis of Variance* multifaktor, dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* dan uji *Dunnett*.

Data penelitian sel tumor yang ditemukan dengan sel mononuklear yang teraktivasi *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1 mg/ml, 1mg/ml, 10 mg/ml dan 100 mg/ml pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam, dianalisis dengan *Analysis of Variance* multifaktor, dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* dan uji *Dunnett*.

4. 9. ALUR KERJA

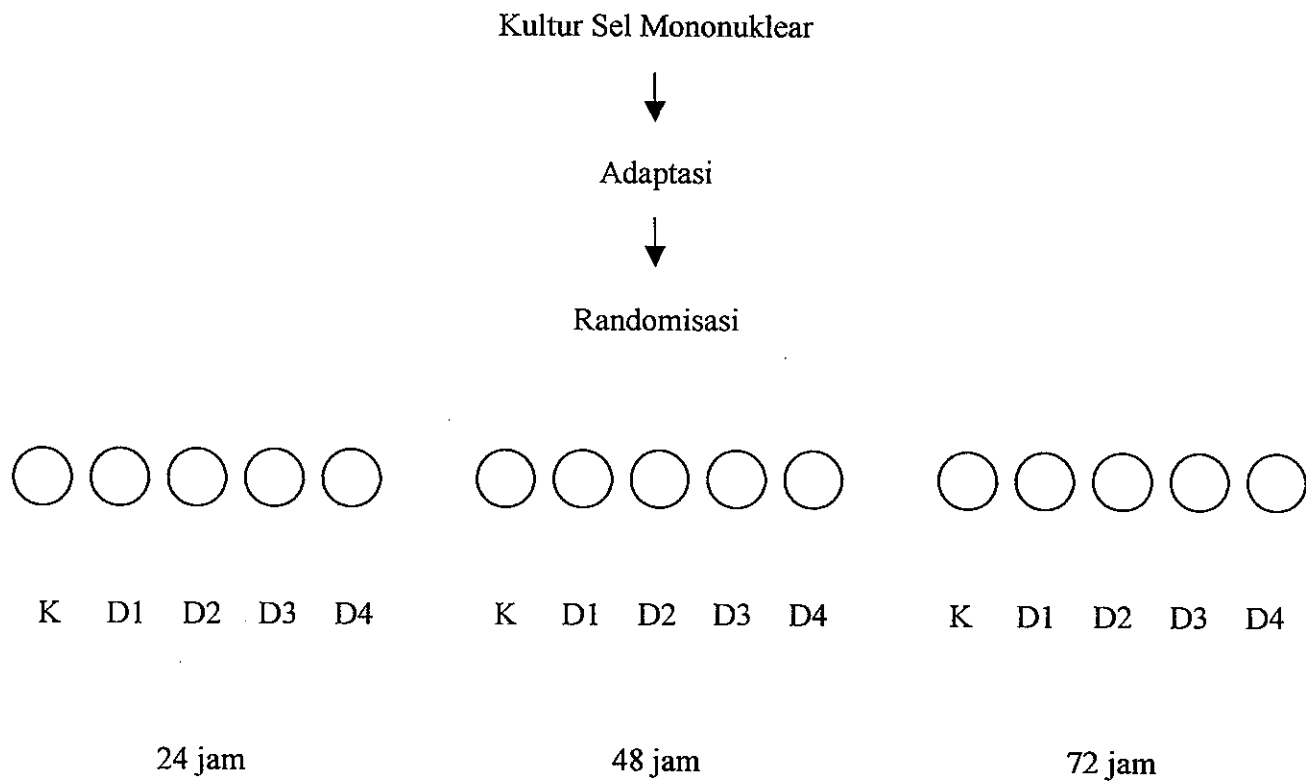
4.9.1. PENELITIAN PENDAHULUAN SEL TUMOR DENGAN

Phyllanthus niruri L DOSIS 4.



Tiap sumuran berisi 100 ul suspensi sel tumor, 200 ul ekstrak Pn dosis 100mg/ml dan ditambah medium RPMI lengkap sampai volume 2 cc. Observasi viabilitas sel tumor dengan replikasi 6 x.

4.9.2. PENELITIAN PENDAHULUAN SEL MONONUKLEAR DENGAN *Phyllanthus niruri* L BERBAGAI DOSIS



Tiap sumuran berisi 60 ul suspensi sel mononuklear dengan kepadatan $5,2 \times 10^6$ yang ditetesi ekstrak Pn dosis 1,2,3,4).

Observasi viabilitas sel mononuklear dengan replikasi 6 kali.

K : Kontrol

D 1 : Dosis Pn 0,1 mg/ml

D 2 : Dosis Pn 1 mg/ml

D 3 : Dosis Pn 10 mg/ml

D 4 : Dosis Pn 100 mg/ml

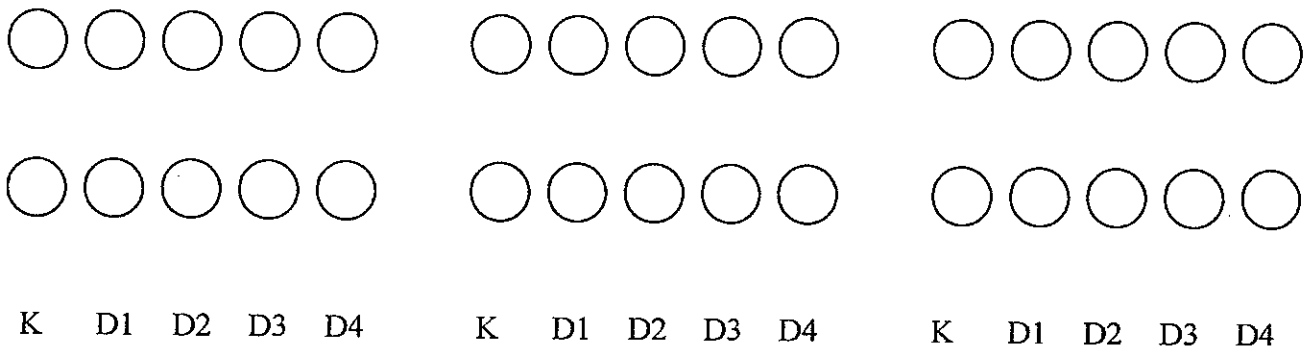
4.9.3 ALUR KERJA PENELITIAN

Kultur Sel Mononuklear yang telah teraktivasi PN pada kelompok waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam ditemukan dengan sel tumor.

Kel. 24 jam

Kel. 48 jam

Kel. 72 jam



18 jam

18 jam

18 jam

Kepadatan sel mononuklear $5,2 \times 10^6$ sel dalam 100 ul

Kepadatan sel tumor $0,1 \times 10^6$ sel dalam 100 ul

Setelah ditemukan antara sel mononuklear dan sel tumor, 18 jam kemudian di observasi viabilitas sel tumor dengan replikasi 4x (duplo) .

Keterangan :

○ : Sumuran berisi sel mononuklear dan sel tumor

K : Kontrol

D1 : Dosis Pn 0,1 mg/ml

D2 : Dosis Pn 1 mg/ml

D3 : Dosis Pn 10 mg/ml

D4 : Dosis Pn 100 mg/ml

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 ANALISIS PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *Phyllanthus niruri L* DOSIS 4 TERHADAP VIABILITAS SEL TUMOR PADA WAKTU 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

Pada penelitian pendahuluan, sel tumor ditambah ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 4 (100 mg/ml), setelah 24 jam, 48 jam dan 72 jam dilihat viabilitas sel tumor. Data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan uji *Kolmogorof Smirnov*, ternyata didapatkan distribusi datanya normal, kemudian dilanjutkan dengan uji *Benferoni*. Hasil analisa dijelaskan pada tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1 Viabilitas sel tumor yang di beri ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 100 mg/ml

	Waktu 24 jam	Waktu 48 jam	Waktu 72 jam
Kontrol	98,3 %	95,2 %	91,6 %
Pn dosis 4	95,9 %	95,3 %	94,0 %

Kemudian dilakukan uji – t pada kelompok waktu 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Hasilnya dijelaskan pada tabel 2 sebagai berikut:

TABEL.2 Hasil uji – t viabilitas sel tumor yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 100 mg/ml pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

	Waktu	Mean	SD	t	df	P
Kontrol	24 jam	98,3	2,7	1,781	5	0,135
Perlakuan		96,0	2,7			
Kontrol	48 jam	92,2	3,8	- 0,106	5	0,919
Perlakuan		95,3	3,2			
Kontrol	72 jam	91,6	1,2	- 0,863	5	0,428
Perlakuan		93,9	5,7			

Dengan uji Benferoni , taraf signifikansi $\alpha = 5\%$, $N = 6$ didapatkan nilai $p = 0,0083$. Pada tabel 2 diatas nilai $p > 0,0083$ pada kelompok waktu 24 jam, 48 jam maupun 72 jam. Dengan demikian viabilitas sel tumor yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 100 mg/ml perbedaannya tidak bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol, baik pada waktru 24 jam, 48 jam maupun 72 jam.

5.2 ANALISIS PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *Phyllanthus niruri* L PADA SEL MONONUKLEAR

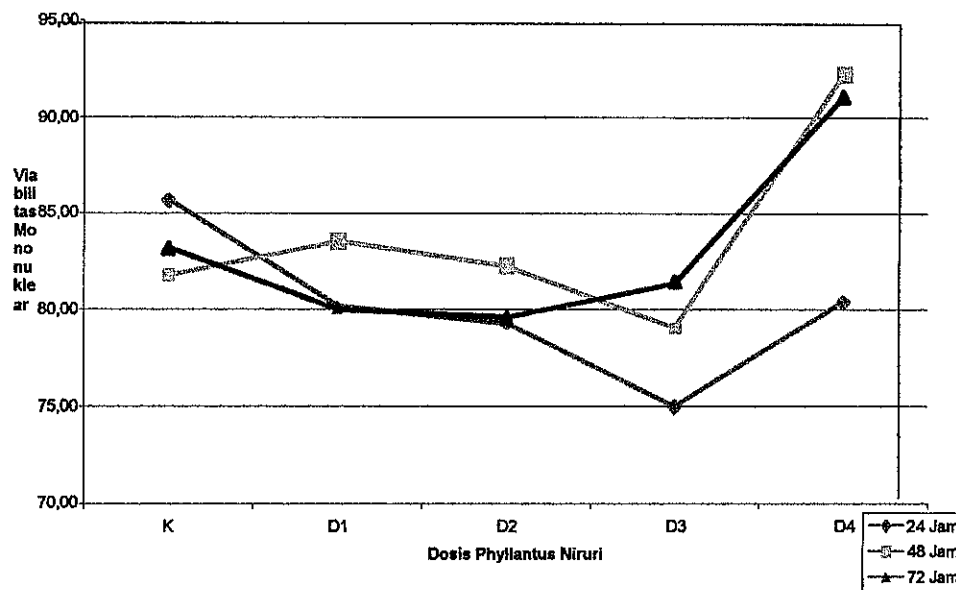
Analisis berikut adalah pengaruh pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 1 (0,1 mg/ml), dosis 2 (1 mg/ml), dosis 3 (10 mg/ml) dan dosis 4 (100 mg/ml) terhadap viabilitas sel mononuklear pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan *Kolmogorof Smirnov* didapatkan hasil distribusi datanya normal. Data diuji

dengan *Analisis of Variance* multifaktor dan dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* dan uji *Dunnett*.

Tabel.3 Viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 1,2,3,4 pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam dan nilai -P dibandingkan dengan kelompok kontrol menurut uji-Dunnett

	Waktu 24 jam	Waktu 48 jam	Waktu 72 jam	p
Kontrol	85,6 %	81,8 %	83,2 %	—
Dosis 1	80,2 %	83,6 %	80,0 %	0,441
Dosis 2	79,3 %	82,3 %	79,6 %	0,182
Dosis 3	75,0%	79,0 %	81,4 %	0,011
Dosis 4	80,4 %	92,2 %	91,1 %	0,034

Pada tabel 3, viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 1 dan dosis 2, perbedaannya tidak bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sedangkan viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 3 dan dosis 4 perbedaannya bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Terlihat pada grafik 1 sebagai berikut:



GRAFIK 1 VIABILITAS SEL MONONUKLEAR YANG DIBERI Pn DOSIS 1,2,3,4, PADA WAKTU 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

Pada grafik 1, viabilitas sel mononuklear tertinggi pada pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 4 (100 mg/ml) dalam waktu 48 jam. Viabilitas sel mononuklear terendah pada pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 3 (10mg/ml) dalam waktu 24 jam.

Untuk menentukan nilai tertinggi dan nilai terendah viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri* L serta perbedaan antar dosis, dijelaskan pada tabel 4 sebagai berikut:

**TABEL 4. VIABILITAS SEL MONONUKLEAR
MENURUT UJI - *Tukey HSD***

DOSIS Pn	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
D3	18	78,4756		
D2	18	80,4022	80,4022	
D1	18	81,2589	81,2589	
K	18		83,5600	
D4	18			87,9344

Dari tabel 4 terlihat viabilitas sel mononuklear tertinggi dicapai pada nilai 87,9344 yaitu pada pemberian dosis 4 ekstrak *Phyllanthus niruri L*, dan viabilitas sel mononuklear terendah dicapai pada nilai 78,4756 yaitu pada pemberian dosis 3 ekstrak *Phyllanthus niruri L*.

Viabilitas sel mononuklear pada kelompok kontrol dibandingkan dengan dosis 1 dan dosis 2 tidak bermakna. Sedangkan viabilitas sel mononuklear pada kelompok kontrol dibandingkan dengan dosis 3 ada perbedaan yang bermakna. Viabilitas sel mononuklear pada pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 1, 2 dan 3 tidak ada perbedaan yang bermakna.

Nilai signifikansi viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 1, 2, 3 dan 4 dibandingkan dengan kelompok kontrol dijelaskan pada tabel 5 sebagai berikut:

TABEL 5 Hasil penghitungan nilai – p viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 1,2,3, dan 4 dibandingkan dengan kelompok kontrol menurut uji *Dunnett*

DOSIS Pn	Kontrol	p
D1	Kontrol	0,441
D2	Kontrol	0,182
D3	Kontrol	0,011
D4	Kontrol	0,034

Dari tabel 5 terlihat bahwa viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 1 dan dosis 2 tidak bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sedangkan viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 3 dan dosis 4 ada perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol.

Untuk melihat lamanya waktu teraktivasinya sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dijelaskan pada tabel 6 sebagai berikut:

TABEL.6 Hasil penghitungan viabilitas sel mononuklar yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* berdasarkan waktu menurut uji *Tukey HSD*

WAKTU	N	Subset 1	Subset 2
24 jam	30	80,1127	—
72 jam	30	83,0710	83,0710
48 jam	30	—	83,7950

Dari tabel 6 terlihat bahwa lamanya aktivasi sel mononuklear oleh *phyllanthus niruri L* terendah dicapai nilai 80,1127 yaitu pada waktu 24 jam. Sedangkan lamanya aktivasi sel mononuklear oleh *phyllanthus niruri L* yang tertinggi dicapai nilai 83,7950 yaitu pada waktu 48 jam. Dan tidak ada perbedaan yang bermakna antara waktu 48 jam dan 72 jam. Dengan demikian sel mononuklear teraktivasi oleh ekstrak *Phyllanthus niruri L* secara efektif pada dosis 100 mg/ml dan waktu aktivasi 48 jam.

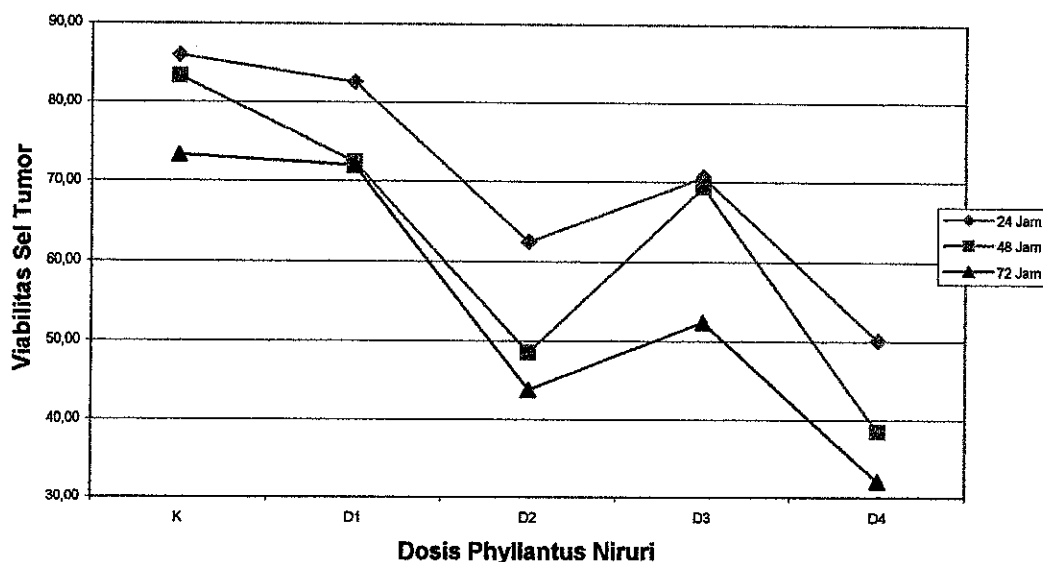
5.3 ANALISIS PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *Phyllanthus niruri L* PADA SEL MONONUKLEAR TERHADAP VIABILITAS SEL TUMOR

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji *Kolmogorof Smirnov* didapatkan hasil distribusi datanya normal. Kemudian di uji dengan *Analysis of Variance* multifaktor dan dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* dan uji *Dunnett*. Hasilnya dijelaskan pada tabel 7 sebagai berikut:

**Tabel 7 VIABILITAS SEL TUMOR YANG DIBERI
SEL MONONUKLEAR TERAKTIVASI OLEH Pn DOSIS 1,2,3,4
pada 24 jam, 48 jam dan 72 jam dan nilai – P dibandingkan dengan
kelompok kontrol menurut uji *Dunnett***

	Waktu 24 jam	Waktu 48 jam	Waktu 72 jam	p
Kontrol	86,0. %	83,3 %	73,3 %	—
Dosis 1	82,5 %	72,4 %	72,0%	0,327
Dosis 2	62,5 %	48,5 %	43,8 %	0,0001
Dosis 3	70,7 %	69,5 %	52,4 %	0,0001
Dosis 4	50,1 %	38,5 %	32,1 %	0,0001

Pada tabel 7, terlihat viabilitas sel tumor yang diberi sel mononuklear teraktivasi oleh *Phyllanthus niruri L* dosis 1, tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Viabilitas sel tumor yang diberi sel mononuklear teraktivasi oleh *Phyllanthus niruri L* dosis 2, 3 dan 4, berbeda secara bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Terlihat pada grafik 2 sebagai berikut:



GRAFIK.2. VIABILITAS SEL TUMOR YANG DIBERI SEL MONONUKLEAR TERAKTIVASI OLEH Pn DOSIS 1, 2, 3, 4 PADA 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

Pada grafik 2 terlihat kematian sel tumor yang paling banyak (viabilitas sel tumor terendah) pada pemberian sel mononuklear yang teraktivasi oleh *Phyllanthus niruri L* dosis 4 (100 mg/ml) dalam waktu 72 jam. Kematian sel tumor yang paling sedikit (viabilitas sel tumor tertinggi) pada kelompok kontrol dalam waktu 24 jam.

Untuk melihat perbedaan dosis *Phyllanthus niruri L* yang diberikan ke sel mononuklear terhadap viabilitas sel tumor dijelaskan pada tabel 8 sebagai berikut:

TABEL.8. Hasil penghitungan perbedaan dosis *Phyllanthus niruri L* yang diberikan ke sel mononuklear terhadap viabilitas sel tumor menurut uji *Tukey HSD*

DOSIS Pn	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3	Subset 4
D4	18	40,2228	—	—	—
D2	18	—	51,5928	—	—
D3	18	—	—	64,2167	—
D1	18	—	—	—	75,6833
K	18	—	—	—	80,8689

Dari tabel. 8. diatas menunjukkan bahwa kematian sel tumor yang tertinggi (viabilitas sel tumor terendah) dicapai pada nilai 40,228 yaitu pada dosis 4 (100 mg/ml) dari *Phyllanthus niruri L*. Sedangkan kematian sel tumor yang terendah (viabilitas sel tumor tertinggi) dicapai pada nilai 80,8689 yaitu pada kelompok kontrol.

Kematian sel tumor pada kelompok kontrol tidak bermakna dibandingkan dengan kematian sel tumor pada kelompok dosis 1 (0,1 mg/ml). Sedangkan kematian sel tumor pada dosis 2, 3 dan 4 berbeda secara bermakna dengan kelompok kontrol maupun kelompok dosis 1.

Nilai signifikansi viabilitas sel tumor dibandingkan dengan kelompok kontrol, dijelaskan pada tabel 9 sebagai berikut:

TABEL.9. Hasil penghitungan signifikansi viabilitas sel tumor dibandingkan dengan kelompok kontrol menurut uji *Dunnett*

Dosis Pn	Kontrol	p
D1	Kontrol	0,327
D2	Kontrol	0,0001
D3	Kontrol	0,0001
D4	Kontrol	0,0001

Dari tabel. 9. terlihat bahwa kematian sel tumor yang diberi sel mononuklear teraktivasi *Phyllanthus niruri L* dosis 1 tidak bermakna di bandingkan dengan kelompok kontrol. Sedangkan kematian sel tumor yang diberi sel mononuklear teraktivasi *Phyllanthus niruri L* dosis 2, 3, dan 4 ada perbedaan yang bermakna di bandingkan dengan kelompok kontrol.

Waktu teraktivasinya sel mononuklear oleh *Phyllanthus niruri L* yang menyebabkan kematian sel tumor paling banyak (viabilitas sel tumor terendah) dan kematian sel tumor paling sedikit (viabilitas sel tumor tertinggi) dijelaskan pada tabel 10 sebagai berikut:

TABEL.10. Viabilitas sel tumor dilihat dari waktu sel mononuklear teraktivasi oleh ekstrak *Phyllanthus niruri L* menurut uji Tukey HSD

WAKTU	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
72 jam	30	54,7300		
48 jam	30		62,4530	
24 jam	30			70,3677

Dari tabel. 10. terlihat bahwa kematian sel tumor yang tertinggi (viabilitas sel tumor terendah) dicapai pada nilai 54,7300 yaitu pada waktu 72 jam (lamanya sel mononuklear teraktivasi oleh *Phyllanthus niruri L*) dan kematian sel tumor terendah (viabilitas sel tumor tertinggi) dicapai pada nilai 70,3677 yaitu pada waktu 24 jam (lamanya sel mononuklear teraktivasi oleh *Phyllanthus niruri L*). Dengan demikian penurunan viabilitas sel tumor yang efektif adalah pada pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 4 (100 mg/ml) dan waktu aktivasi sel mononuklear 72 jam.

Dengan demikian terbukti bahwa hipotesis penelitian ini bahwa pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* pada sel mononuklear menurunkan viabilitas sel tumor dan dipengaruhi oleh dosis dan waktu.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *Phyllanthus niruri* L DOSIS 100 mg/ml KE SEL TUMOR TERHADAP VIABILITAS SEL TUMOR PADA WAKTU 24 jam, 48 jam dan 72 jam.

Pada penelitian pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 100 mg/ml ke sel tumor setelah 24 jam, didapatkan nilai rata – rata viabilitas sel tumor pada kelompok kontrol 98,3 % dan nilai rata – rata viabilitas sel tumor pada kelompok perlakuan 95,9 % (Lihat tabel.1). Dengan menggunakan uji –t dan dilanjutkan dengan uji *Benferoni* untuk mengoreksi signifikansi, didapatkan hasil $p > 0,0083$ dengan demikian rata – rata viabilitas sel tumor pada kelompok kontrol perbedaannya tidak bermakna dibandingkan dengan rata – rata viabilitas sel tumor pada kelompok perlakuan, pada pengamatan 24 jam, 48 jam maupun 72 jam. Dengan demikian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 100 mg/ml yang diberikan ke sel tumor, tidak toksik terhadap sel tumor (tidak berpengaruh terhadap viabilitas sel tumor).

6.2 PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *Phyllanthus niruri* L PADA SEL MONONUKLEAR.

Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L pada sel mononuklear akan berpengaruh pada viabilitas sel mononuklear tergantung dosis *Phyllanthus niruri* L dan lamanya waktu aktivasi.

Pada pengujian statistik dengan menggunakan *Analysis of Variance* multifaktor dengan uji *Tukey HSD* dan uji *Dunnett* didapatkan hasil, sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1 mg/ml dan 1mg/ml dibandingkan dengan kelompok kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Ini dimungkinkan pada dosis – dosis tertentu dari ekstrak *Phyllanthus niruri L* bila diberikan pada sel mononuklear, sel mononuklear ini belum teraktivasi atau teraktivasi namun sitokin – sitokin yang dihasilkan masih sangat sedikit sehingga tidak mempengaruhi respon biologi dari sel mononuklear.

Pada pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 10 mg /ml , viabilitas sel mononuklear menurun secara bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol (lihat tabel.5). Hal ini mungkin karena pengaruh dari sel – sel lain selain sel mononuklear yang dapat mempengaruhi viabilitas sel mononuklear. Pada penelitian ini tidak dipisahkan antara makrofag, sel-NK, limfosit-T maupun limfosit-B .

Dimungkinkan pada dosis 10 mg/ml *Phyllanthus niruri L* tidak bekerja pada sel mononuklear atau pada dosis ini *Phyllanthus niruri L* sebagai immunosupresor. Namun walaupun penurunan viabilitas sel mononuklear ini bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol, sel mononuklear ini masih dapat dipakai untuk perlakuan penelitian selanjutnya. Nilai rata – rata viabilitas sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 10 mg/ml adalah 74,97% (24 jam), 79,0 % (48 jam) dan 81,4 % (72 jam/lihat tabel. 4)

Pada pemberian *Phyllanthus niruri* L dosis 100 mg/ml , viabilitas sel mononuklear meningkat secara bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Ini mungkin karena *Phyllanthus niruri* L sebagai imunostimulan, sel mononuklear pada penelitian ini sudah teraktivasi dengan baik, dan pengaruh sitokin yang diproduksi oleh sel mononuklear, sehingga terjadi proliferasi limfosit, limfosit dapat lebih mengenali antigen tumor, demikian juga sel -NK, makrofag akan menjadi lebih aktif.

Pembuktian hipotesis terhadap lamanya waktu teraktivasinya sel mononuklear, dengan penghitungan statistik menurut *Tukey HSD* didapatkan hasil viabilitas sel mononuklear yang diberi *Phyllanthus niruri* L tertinggi dicapai pada nilai 83,795 dalam waktu 48 jam dan viabilitas sel mononuklear terendah dicapai pada nilai 80,113 dalam waktu 24 jam. Dengan demikian dapat disimpulkan *Phyllanthus niruri* L menunjukkan efek yang maksimal pada sel mononuklear (pada penelitian ini) pada dosis 100 mg/ml dalam waktu 48 jam.

6.3 PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AIR *Phyllanthus niruri* L PADA SEL MONONUKLEAR TERHADAP VIABILITAS SEL TUMOR

Pada hasil penelitian ini sel mononuklear yang teraktivasi oleh *Phyllanthus niruri* L dosis 0,1mg/ml tidak mempengaruhi viabilitas sel tumor. Sel mononuklear yang teraktivasi oleh *Phyllanthus niruri* L dosis 1 mg/ml, 10 mg/ml dan 100 mg/ml mempengaruhi viabilitas sel tumor. Pada pengujian hasil statistik dengan *Analysis of Variance* multifaktor, dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* dan uji *Dunnnett* didapatkan hasil viabilitas sel tumor akan

menurun maksimal pada dosis *Phyllanthus niruri* L 100 mg/ml yang diberikan pada sel mononuklear selama 72 jam. Pada dosis 1 mg/ml, 10 mg/ml dan 100 mg/ml dari *Phyllanthus niruri* L dapat menurunkan viabilitas sel tumor dan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan dosis-dosis tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa *Phyllanthus niruri* L sebagai imunostimulan dapat mengaktivasi sel mononuklear sehingga sel mononuklear akan mengenali antigen tumor dan terjadi penurunan viabilitas sel tumor. Penurunan viabilitas sel tumor ini mungkin dapat disebabkan karena aktivasi sel mononukleaar akan dihasilkan sitokin Th1 yaitu IFN- γ (*Inter Feron Gama*), TNF- β (*Tumor Necrosis Factor Beta*) dan IL-2 (*Inter Leukin 2*). IFN- γ akan mengaktifkan makrofag sehingga kemampuan untuk memfagositosis sel tumor akan bertambah. Pada penelitian pemberian peroral *Phyllanthus niruri* L pada mencit dapat meningkatkan fagositosis makrofag.⁷ Makrofag yang teraktivasi akan menghasilkan IL-12 dan IL-12 ini akan mengaktifkan sel-NK (*Natural Killer*) dan juga mengaktivasi sel-T CD 8⁺.¹⁷ Makrofag yang aktif juga akan menghasilkan enzim lisosom, H₂O₂, prostaglandin, IL-2, IFN- γ , TNF- α , nitrit oksid (pada tikus). Sel- NK yang aktif akan menghasilkan perforin, dimana perforin ini akan membuat lubang – lubang pada membran sel tumor dan berakibat lisisnya sel tumor. Pada penelitian pemberian peroral *Phyllanthus emblica* pada mencit galur BALB/c dapat meningkatkan sitotoksitas sel-NK dan juga pemberian peroral ekstrak *Phyllanthus niruri* L dapat meningkatkan sitotoksitas sel -NK terhadap sel

target SV 49 (Limfosarkoma mencit) walaupun mekanisme bagaimana sel-NK mengenali sel target secara langsung masih belum jelas.⁷

Pengenalan antigen oleh sel-T terjadi pada beberapa respon biologi yang mempengaruhi imunitas seluler maupun humoral. Proliferasi sel -T pada respon pengenalan antigen diperantarai oleh lintasan *autocrin growth factor* yang merupakan respon dari sel-T untuk mensekresi sitokin sendiri (IL-2) untuk pertumbuhan sel-T. Proses diferensiasi sel-T tergantung dari antigen yang menginduksi aktivasi sel-T dan akibat dari faktor lain yaitu sitokin – sitokin dan sinyal –sinyal yang disampaikan oleh molekul asesori sel -T.²¹ Disini *Phyllanthus niruri L* sebagai antigen yang berikatan dengan molekul asesori sel –T akan terjadi sinyal – sinyal yang dapat berakibat proliferasi sel T ataupun menekan proliferasi sel –T.

Sel tumor juga memproduksi prostaglandin dan TGF- β yang berefek menekan aktifitas limfosit.^{21,27} Dengan pemberian *Phyllanthus niruri L* sebagai imunostimulan dimungkinkan juga adanya penurunan produksi prostaglandin maupun TGF- β .sehingga dapat meningkatkan aktivitas sel mononuklear dan menurunkan viabilitas sel tumor. Dengan demikian pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* pada sel mononuklear dapat menurunkan viabilitas sel tumor dan dipengaruhi oleh dosis dan waktu. Jadi hipotesis pada penelitian ini diterima yaitu :

Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* pada sel mononuklear menurunkan viabilitas sel tumor dan dipengaruhi oleh dosis dan waktu.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 100 mg/ml ke sel tumor, pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam tidak mempengaruhi viabilitas sel tumor.

Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 0,1 mg/ml ke sel mononuklear, tidak mempengaruhi viabilitas sel tumor. Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 1 mg/ml, 10 mg/ml dan 100 mg/ml ke sel mononuklear dapat menurunkan viabilitas sel tumor. Pada penelitian ini penurunan viabilitas sel tumor yang paling efektif dicapai pada dosis 100 mg/ml dalam waktu aktivitas sel mononuklear 72 jam (viabilitas sel tumor sebesar 32,1 %).

Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 0,1 mg/ml, dan 1mg/ml, ke sel mononuklear tidak mempengaruhi viabilitas sel mononuklear.

Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 10 mg/ml dan 100 mg/ml ke sel mononuklear, mempengaruhi viabilitas sel mononuklear.

Pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 10 mg/ml ke sel mononuklear, terjadi penurunan viabilitas sel mononuklear dan berbeda secara bermakna dengan kelompok kontrol.

Pemberian *Phyllanthus niruri L* dosis 100 mg/ml ke sel mononuklear ,terjadi peningkatan viabilitas sel mononuklear dalam waktu 48 jam dan berbeda secara bermakna dengan kelompok kontrol.

7.2 SARAN

- Perlu diteliti sitokin – sitokin apa saja yang berperan pada pemberian *Phyllanthus niruri L* berbagai dosis ke sel mononuklear.
- Perlu diteliti sitokin – sitokin yang berperan pada pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 10 mg/ml (dosis 3) pada sel mononuklear setelah ditemukan dengan sel tumor.

BAB 8

RINGKASAN

Di Indonesia penyakit kanker mamma menduduki tempat ke dua setelah kanker leher rahim. Berbagai terapi kanker baik pembedahan, radioterapi maupun kemoterapi sampai saat ini masih belum berhasil dengan baik.

Phyllanthus niruri L merupakan tanaman obat tradisional yang bersifat imunostimulan. Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan, *Phyllanthus niruri L* ini dapat menyebabkan proliferasi limfosit, meningkatkan sitotoksitas sel -NK serta meningkatkan fagositosis makrofag.⁷ Penelitian ini mengkaji pengaruh pemberian ekstrak air *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1 mg/ml (dosis 1), 1 mg/ml (dosis 2), 10 mg/ml (dosis 3) dan 100 mg/ ml (dosis 4) ke sel mononuklear terhadap viabilitas sel tumor dalam waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam .

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik (invitro) dengan design penelitian *Post Test Randomized Control Group Design*. Sampel adalah kultur sel tumor (jenis adenokarsinoma) yang telah adaptasi diambil dari mencit C3H bertumor, di temukan dengan kultur sel mononuklear (dari limpa mencit C3H sehat) yang telah teraktivasi oleh ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 1, 2, 3, dan 4 selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Masing – masing kelompok waktu, setelah ditemukan antara sel mononuklear dengan sel tumor, 18 jam kemudian diamati viabilitas sel tumor yaitu perbandingan sel tumor yang hidup dengan sel tumor yang mati.

Pada penelitian ini kultur sel tumor ditambahkan pada 15 sumuran dengan kepadatan $0,1 \times 10^6$ sel tiap sumuran. Dari 15 sumuran ini dibagi menjadi 3 kelompok yaitu untuk kelompok pengamatan 24 jam sebanyak 5 sumuran, kelompok pengamatan 48 jam sebanyak 5 sumuran dan kelompok pengamatan 72 jam sebanyak 5 sumuran. Dari masing – masing 5 sumuran ini dilakukan randomisasi sederhana dan terbagi menjadi kelompok kontrol, kelompok dosis 1, kelompok dosis 2, kelompok dosis 3 dan kelompok dosis 4. Kultur sel mononuklear juga ditambahkan pada 15 sumuran dengan kepadatan $5,2 \times 10^6$ sel tiap sumurann. Dari 15 sumuran ini dibagi menjadi 3 kelompok waktu seperti diatas. Dari masing – masing 5 sumuran dilakukan randomisasi sederhana dan terbagi menjadi kelompok kontrol, kelompok dosis 1, kelompok dosis 2, kelompok dosis 3, dan kelompok dosis 4. kemudian kelompok perlakuan dari kultur sel mononuklear ini ditetesi dengan ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml dan 100 mg/ml. Setelah 24 jam, 48 jam dan 72 jam sel mononuklear ini teraktivasi oleh *Phyllanthus niruri L* dan dari masing – masing kelompok pengamatan di temukan dengan sel tumor yaitu 100 ul sel mononuklear dan 100 ul sel tumor ditambahkan pada tiap sumuran. Pada penelitian ini dipakai 10 sumuran dimana 2 sumuran untuk kelompok kontrol, 2 sumuran untuk kelompok dosis 1, 2 sumuran untuk kelompok dosis 2, 2 sumuran untuk kelompok dosis 3, 2 sumuran untuk kelompok dosis 4. Dari masing – masing kelompok waktu setelah ditemukan, 18 jam kemudian diamati viabilitas sel tumor.

Dilakukan penelitian pendahuluan yaitu sel tumor di tetesi dengan ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 100 mg/ml dan diamati setelah 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Dilakukan juga penelitian pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml, dan 100 mg/ml pada sel mononuklear setelah waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam diamati viabilitas sel mononuklear pada masing – masing kelompok waktu. Data yang diperoleh, dilakukan analisis statistik dengan uji *Kolmogorov Smirnov* didapatkan distribusi data normal.

Data penelitian pendahuluan sel tumor yang ditetesi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 100 mg/ml dianalisis dengan uji - t dan dilanjutkan dengan uji *Benferoni* didapatkan hasil $p > 0,0083$. Sehingga disimpulkan viabilitas sel tumor tidak berpengaruh terhadap *Phyllanthus niruri L* dosis 100 mg/ml pada waktu 24 jam, 48 jam maupun 72 jam.

Data penelitian sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1 mg/ml, 1 mg/ml , 10 mg/ml, dan 100 mg/ml pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam, dianalisis dengan *Analysis of Variance* multifaktor dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* dan uji *Dunnett* didapatkan hasil, sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 0,1 mg/ml dan 1 mg/ml dibandingkan dengan kelompok kontrol, tidak ada perbedaan yang bermakna (tidak berpengaruh terhadap viabilitas sel mononuklear). Sel mononuklear yang diberi ekstrak *Phyllanthus niruri L* dosis 10 mg/ml dan 100 mg/ml dibandingkan dengan kelompok kontrol, ada perbedaan yang bermakna (berpengaruh terhadap viabilitas sel mononuklear). Viabilitas sel mononuklear tertinggi dicapai pada pemberian *Phyllanthus niruri L* dosis 100 mg/ml dalam waktu 48 jam. Viabilitas sel

mononuklear terendah dicapai pada pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 10 mg/ml dalam waktu 24 jam.

Data penelitian sel tumor yang ditemukan dengan sel mononuklear yang telah teraktivasi oleh *Phyllanthus niruri* L dosis 0,1 mg/ml, 1 mg/ml, 10 mg/ml, dan 100 mg/ml pada waktu 24 jam, 48 jam dan 72 jam dianalisis dengan *Analysis of Variance* multifaktor dan dilanjutkan dengan uji *Tukey HSD* dan uji *Dunnnett* di dapatkan hasil, kematian sel tumor yang paling banyak (viabilitas sel tumor yang paling rendah) dicapai pada nilai 40,223 (tabel.9) adalah pada pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L dosis 100 mg/ml ke sel mononuklear dengan waktu aktivasi 72 jam (tabel 11). Kematian sel tumor yang paling sedikit (viabilitas sel tumor yang paling tinggi) dicapai pada nilai 80,8689 (tabel 9) yaitu pada kelompok kontrol dengan waktu aktivasi 24 jam (tabel. 11) .

Hasil penelitian ini diharapkan dapat lebih dikembangkan lagi untuk pengembangan pemakaian obat tradisional dalam mencari terapi untuk menanggulangi penyakit keganasan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dawn B, Allan D, Smith CM. Biokimia Kedokteran Dasar Sebuah Pendekatan Klinik. EGC 2000 : 168-173.
2. Tan M.L, Sulaiman, S.F, Najimudin N, Samian M.R, Tengku M. Growth Inhibition And Apoptosis Of Breast Carcinoma Cell Line By Pareskia Corrugata Extract. Proc.NSF Workshop 1001, Kuala Lumpur. <http://www.mastic.gov.my/kstas/NSFWorkshop/NSF/nsf%5CPHAR18.D> OC.
3. Kahar K.W. Mamograf dan USG pada Kanker Payudara dalam Seminar Consersing Treatment. R.S Mitra Keluarga Kelapa Gading. Jakarta. Januari 2003.
4. Anonym. Bidang Penelitian dan Registrasi. Indonesian Cancer Foundation – Y. K. I.Ykipusat@radnet.id.
5. H.M. Allan Rock. The Renewed Canadian Breast Cancer Initiative (1998 – 2003). Breast Cancer Q & A Publ. June 1998.
6. Karthikeyen N.P, Velmurugan R, Balakrisnan A. Phyllanthus urinaria – a Potent Anti Cancer Molecule Proven By The Modern Tools Of Biotechnology. Adenin Press NY. Stone @ adeninpress. Com. [Http://www.cancerwatch.org](http://www.cancerwatch.org)
7. Suprpto Ma'at. Phyllanthus niruri L sebagai imunostimulator pada mencit. Penelitian Eksperimental Laboratorik. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya. 1996

8. Pettit GR. The Isolation And Structure Elucidation Of New Phyllanthus Glycoside Phyllanthostatin. JNP 1990.
9. Robin S I, Kumar V. Buku Ajar Patologi I. EGC 1995: 222 – 233.
10. Strachan T, Read A P. Somatic Mutation and Cancer. Human Molecular Genetic. BIOS Scientific Publ. Limited. Oxford 1996: 457 – 463.
11. Van Slooten HJ, Van den Vijver MJ, Van de Velde CJ, et al. Los of BCl₂ In Invasif Breast Cancer In Associated With High Rates Of Cell Death But Also With Increased Proliferative Activity. Br J Cancer 1999 ; 77: 789.
12. Knowlton K, Mancini M, Creason S, et al. BCl₂ Slows Invitro Breast Cancer Growth Despite Its Anti Apoptotic Effect. J Surg Res, 1998 ; 76:22.
13. Krawjewski S, Krawjewski M, Turner BC et al. Pognostic Significance Of Apoptosis Regulator In Breast Cancer. Endocrinology Relat cancer 1999; 29 – 40.
14. Suhartono T P. Biologi Molekuler Kedokteran. AUP. Surabaya. 1977: 57-59.
15. Anonym. Basic Molecular and Cell Biology. BMJ. 2nd ed. 1993; 74-83.
16. Anonym. Death of Cancer cell. <http://www.inca.org.br/index.cfm>.
17. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular Biology of The Cell . 3rd ed. Garland Publ. New York 1994: 1269 – 1270.
18. Sarjadi. Patologi Umum dan Sistematis. Penerbit EGC vol I ed 2. Jakarta. 1994 : 267 – 297.

19. Ebehart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FB et al. Up regulation of cyclooxygenase -2 gen expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 1994 ; 107: 1183 – 1185.
20. Watson AJ. Chemopreventif effect of NSAIDs against colorectal cancer regulation of apoptosis and mitosis by COX-1 and COX-2. *Histol Histopathol* 1998; 13: 591.
21. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology*. 3rd ed. W.B.Saunders Coy, Philadelphia, 1997 : 151 – 169, 268 – 269, 396.
22. Siti Boedina K. *Imunologi : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Penerbit FK UI ed 3. Jakarta 2000 : 228-235.
23. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Biokimia Harper*. Penerbit EGC. ed 24. 1999: 799.
24. Clermont JG, Yong Xia, Zweier JL, Sollott S. Antioxidant may block molecular messengers used by cancers. *Media contact John cramer* 1997, Email: [Jcramer @Welchlink. Welch. jhv. Edu](mailto:Jcramer@Welchlink.Welch.jhv.Edu).
25. Karnen G B. *Imunologi dasar*. ed 4. Penerbit FK UI Jakarta 2000 : 164-168
26. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Bio Chemistry*. 3rd ed. Worth Publ. New York. 2000 : 222 – 227.
27. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology*. 4th ed. W.B.Saunders Coy. Philadelphia 2000: 352, 396.
28. Roitt I. *Essential Immunology*. 8th ed. Black Well Science Ltd. Oxford. 1994 : 18 – 19.

29. Campbell KS, Yusa SI, George Hii B S, Bubev R. Signal transduction inhibitory receptory on human Natural Killer cells. Fox Chase Cancer Center Scientific Report. Philadelphia. 1999.
30. Sudarsono, Agus P, Didik G dkk. Tumbuhan Obat. Pusat Penelitian Obat Tradisional. BP UGM Yogyakarta. 1996; 98.
31. Brack E. Encyclopedic Dictionary of Useful Plants of Peru. Cusco and Peru. 1999 in www.CFS Nutrition.com. Feed Your Health.
32. Rain LS, Peru AL. Chanca Piedra Monograph. Peru 1999 in www.CFS Nutrition.com. Feed Your Health.
33. Syamasundar K, Singh B, Thakur R, et al. Antihepatotoxic principles of phyllanthus niruri herbs. J. Ethnofarmacol 1985; 14: 41 – 45.
34. Mehrotra R, Rawat S. Invitro Studies On The Effect Of Certain Natural Products Against Hepatitis B Virus. Indian J Med Res 1990; 92 : 133 – 138
35. Taylor ML. Secrets Of The Rainforest Tropical Plant Database. Prima Publ. Peru. 1998.
36. Siti Boedina K. Immunologi Diagnosis Dan Prosedur Laboratorium. Penerbit FK UI ed 2. 1991: 189 – 193.
37. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and Molecular Immunology Philadelphia. WB Saunders Coy. 1994: 237-294.
38. Turgeon ML. Immunology And Serology In Laboratory Medicine. 2nd ed. K.Mosby Coy. St Louis. 1996: 59 – 76.
39. Subowo. Immunologi. Penerbit Angkasa Bandung. 1993: 187 – 205.

40. Mac D F, C.H.J Ford. Molecular Biology of Cancer. Bios Scientific Publ. Oxford. 1997: 2 – 10.
41. Coligan JE, Kruisbeek A, Margules DH, Shevach EM, Stober W. Preparation Of Tumor Target Cells Starting With Monolayers Of Adherent Tumor Cells Maintained In Culture. Current Protocols in Immunologi. JW Inc. New York.1994.
42. Alhusin S. Aplikasi Statistik Praktis Dengan SPSS. 10 for Windows. ed 1st. Penerbit J & J. Yokyakarta. 2002: 69 – 220.
43. Singgih S. Buku latihan SPSS Statistik Parametrik. ed 3rd. Penerbit PT.Elex Media Komputindo. Jakarta 2002: 3 – 136.
44. Wilson AP. Animal Cell Cultured : A Practical Approach. 2nd ed. IRL Press. Oxford 1992 : 39 – 63.
45. Kusmardi, Cornain S, Gunardjono, Jauzi S. Analisis Daya Sitotoksik Sel Killer Mencit C3H dan GR Yang Diaktivasi Interleukin-2 Terhadap Sel Tumor Kelenjar Susu Mencit Singenik Dan Alogenik. Majalah Patologi 1999 Januari; 8(4): 1-7.